

ИССЛЕДОВАНИЕ ФАРМАКОГЕНЕТИКИ ВАРФАРИНА И КЛОПИДОГРЕЛА ДЛЯ ОПТИМИЗАЦИИ АНТИТРОМБОТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

ПОСОБИЕ ДЛЯ ВРАЧЕЙ

ИССЛЕДОВАНИЕ ФАРМАКОГЕНЕТИКИ ВАРФАРИНА И КЛОПИДОГРЕЛА ДЛЯ ОПТИМИЗАЦИИ АНТИТРОМБОТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

ПОСОБИЕ ДЛЯ ВРАЧЕЙ

Рекомендовано Учёным Советом
Федерального государственного
бюджетного учреждения
Российским кардиологическим
научно-производственным комплексом
Министерства здравоохранения
Российской Федерации
в качестве пособия для врачей.

Исследование фармагенетики варфарина и клопидогрела для оптимизации антитромботической терапии

ПОСОБИЕ ДЛЯ ВРАЧЕЙ

Коллектив авторов

Подготовка текста пособия: Е. С. Кропачёва¹, А. Л. Комаров¹, А. Е. Донников², О. А. Землянская¹, А. Б. Добровольский¹, Е. П. Панченко¹. **Авторы, материалы которых использованы при подготовке пособия:** О. О. Шахматова¹, Г. В. Джалилова¹, М. О. Митрошкина¹, участники исследования ВАРФАГЕН: Н. Н. Боровков³, Т. В. Вавилова⁴, Н. К. Вереина⁵, Н. А. Воробьева⁶, Л. В. Грехова⁷, А. В. Гронтовская³, Н. И. Жолобова⁵, К. А. Загородникова⁴, Д. А. Затейщиков⁸, И. В. Зотова⁸, Г. А. Колеватова⁷, Н. В. Кох⁹, П. А. Лавринов⁶, Г. И. Лифшиц⁹, А. С. Рогозина⁶, С. П. Синицын⁵, А. Слепухина⁹, О. В. Сироткина⁴, Е. В. Титаева¹, О. Г. Федюшина³, В. С. Чулков⁵, Г. А. Цветовская⁹. **Обеспечение фармакогенетических исследований:** Д. Ю. Трофимов², И. С. Галкина², А. Е. Донников², О. О. Максимова².

¹ — институт кардиологии им. А. Л. Мясникова ФГБУ РКНПК МЗ РФ, Москва

² — ЗАО «НПФ ДНК-Технология», Москва

³ — Нижегородская ГМА, Кафедра госпитальной терапии

⁴ — СПбГМА им. И. И. Мечникова, Кафедра госпитальной терапии. Курс клинической лабораторной диагностики

⁵ — Челябинская ГМА, Кафедра внутренних болезней и эндокринологии, Городской отдел патологии гемостаза, ГКБ №11

⁶ — Северный филиал ФГУ Гематологического Научного Центра МЗ и СР РФ, Архангельск

⁷ — ОГУЗ «Кировский областной кардиологический диспансер», Вятка

⁸ — ФГУ Учебно-научный медицинский центр УДП РФ, Москва

⁹ — ИХБФМ СО РАН, Лаборатория персонализированной медицины, Новосибирск

ОГЛАВЛЕНИЕ

От авторов	6
Часть I. Фармакогенетический метод подбора дозы варфарина	8
1. Введение	8
Профилактика инсульта и системных эмболий у больного с фибрилляцией предсердий	
Профилактика тромбоэмболических осложнений у больных после протезирования клапанов сердца	
Назначение варфарина при лечении и профилактике рецидивов венозного тромбоза	
2. Механизм действия и генетические факторы, определяющие чувствительность к варфарину	10
Механизм действия варфарина	
Генетические факторы, определяющие чувствительность к варфарину	
Заключение	
3. Методика генотипирования	12
4. Расчет индивидуальной дозы варфарина на основании генотипирования с использованием формулы Gage	15
5. Исследование «Варфаген»	18
Критерии включения и исключения	
Конечные точки исследования	
Методы исследования	
Клиническая характеристика больных	
Результаты исследования	
Основные выводы исследования	
6. Дополнительные результаты исследования «Варфаген». Факторы, определяющие темпы насыщения варфарином и предикторы развития чрезмерной гипокоагуляции	37
7. Практические аспекты терапии варфарином, основанные на результатах исследования «Варфаген»	41
8. Литература	44

Часть II. Фармакогенетический метод подбора дозы клопидогрела	48
1. Введение	48
2. Генетические факторы, определяющие исходы терапии клопидогрелом	51
3. Методика генотипирования	61
4. Интерпретация результатов исследования фармакогенетики клопидогрела	64
5. Показания для выполнения фармакогенетических тестов. Предлагаемая тактика в отношении больных с генетическими нарушениями обмена клопидогрела Возможные показания для выполнения фармакогенетических тестов Персонафикация антиагрегантной терапии	65
6. Литература	69
Список сокращений	73

Тромботические окклюзии артерий и вен являются основной причиной смерти и инвалидизации большинства больных сердечно-сосудистыми заболеваниями. Инфаркт миокарда, различные виды ишемического инсульта, тромбоз левого желудочка, искусственные клапаны сердца, венозные тромбоэмболические осложнения (ВТЭО) – тромбоз легочной артерии (ТЭЛА) и тромбоз глубоких вен (ТГВ) – вот далеко не полный перечень заболеваний требующих, с позиции медицины доказательств, длительной антитромботической терапии. Эффективность антитромботической терапии в лечении и профилактике сердечно-сосудистых заболеваний доказана в многочисленных исследованиях, что нашло отражение в соответствующих международных рекомендациях.

Данное методическое пособие посвящено фармакогенетическому подходу к лечению антикоагулянтам – варфарином и антиагрегантам клопидогрелом. Фармакогенетика изучает роль генетических факторов, определяющих ответ организма на лекарственный препарат.

Варфарин не заменим в профилактике тромбозов искусственных клапанов, широко используется в лечении ВТЭО, в профилактике инсульта у больных с фибрилляцией предсердий (ФП). Установлено, что антикоагулянтный ответ пациентов на варфарин зависит от носительства двух полиморфизмов (*2 и *3) в гене *CYP2C9*, участвующем в метаболизме варфарина, а также от носительства полиморфизмов в гене, молекулы – мишени варфарина – *VKORC1*. Носители вышеперечисленных полиморфизмов имеют повышенную чувствительность к варфарину, а частота их встречаемости в популяции РФ составляет около 20 %. В настоящее время разработаны алгоритмы подбора дозы варфарина с учетом множества факторов, включая и показатели фармакогенетики. В пособии предлагается модифицированный алгоритм Gage для расчёта насыщающей и поддерживающей доз варфарина. В 2010 году Управление по контролю качества продуктов и лекарственных средств США (Food and Drug Administration, FDA) сочла необходимым дополнить инструкцию к варфарину сведениями о фармакогенетике варфарина.

Несмотря на то, что до сих пор нет убедительных доказательств уменьшения числа негативных исходов, объединяющих кровотечения и тромботические осложнения, при применении фармакогенетического способа дозирования варфарина, имеются убедительные доказательства тому, что фармакогенетический подход позволяет быстрее и эффективнее подобрать дозу варфарина. Об

этом свидетельствует больший % пребывания в терапевтическом диапазоне МНО у пациентов с фармакогенетическим подходом к подбору дозы варфарина по сравнению со стандартным.

Клопидогрел является одним из компонентов так называемой двойной антитромбоцитарной терапии, которая обязательна у больных, переживших все виды острых коронарных синдромов (ОКС), вне зависимости от тактики ведения, а также у пациентов, подвергнутых плановому чрескожному коронарному вмешательству (ЧКВ). Клопидогрел является пролекарством, это означает, что после попадания в желудочно-кишечный тракт он должен дважды превратиться в активный метаболит. Оказалось, что в гене *CYP2C19*, контролирующем метаболизм клопидогрела в печени встречаются полиморфизмы, т.н. медленно функционирующие аллели. У носителей медленно функционирующих аллелей образуется меньше активного метаболита и соответственно в меньшей степени подавляется функция тромбоцитов, следствием чего можно ожидать большую частоту тромботических осложнений у больных после ЧКВ, получающих клопидогрел. Частота носительства аллелей со сниженной функциональной активностью в популяции РФ составляет около 20 %, среди которых гомозиготы составляют около 2 %. Современные рекомендации считают возможным проведение генотипирования *CYP2C19* у больных ОКС без $\uparrow$ ST, подвергнутых ЧКВ в тех случаях, когда это может повлиять на выбор ингибитора P2Y₁₂ рецепторов тромбоцитов.

Данное пособие является результатом многолетнего сотрудничества Лаборатории клинических проблем атеротромбоза Института кардиологии им. А.Л.Мясникова ФГБУ РК НПК МЗ РФ и ЗАО «НПФ ДНК-Технология». Основная цель ознакомить практических врачей с современными возможностями лечения антитромботическими препаратами. Авторы надеются, что применение новых технологий повысит эффективность и безопасность лечения варфарином и клопидогрелом.

Часть I. Фармакогенетический метод подбора дозы варфарина

1. Введение

Варфарин, назначаемый для профилактики тромбоэмболических осложнений у больных с фибрилляцией предсердий (ФП), искусственными клапанами и пороками сердца, а также для длительного лечения пациентов, перенесших тромбоз глубоких вен или тромбоэмболию легочной артерии, является основным антикоагулянтом для рутинной клинической практики. [1–3].

Профилактика инсульта и системных эмболий у больного с фибрилляцией предсердий

Определяющим в выборе тактики антитромботической терапии у больных с ФП является расчет риска ишемического инсульта (ИИ) и системных эмболий с использованием шкалы CHA_2DS_2-VASc , а не форма аритмии и успех противоаритмической терапии. Пациентам, имеющим хотя бы 1 балл по шкале CHA_2DS_2-VASc , следует рассмотреть использование антикоагулянтной терапии. А больным с количеством баллов по шкале $CHA_2DS_2-VASc \geq 2$ антикоагулянтная терапия абсолютно показана (при отсутствии противопоказаний).

Современные рекомендации в качестве антикоагулянтов для больных с ФП рекомендуют или антагонисты витамина К (АВК), в первую очередь – варфарин, в подобранной дозе (МНО 2–3), или «новые пероральные антикоагулянты» – НОАК.

Профилактика тромбоэмболических осложнений у больных после протезирования клапанов сердца

При установке механических протезов клапанов сердца АВК обязательны и не могут быть заменены ацетилсалициловой кислотой (АСК) или «новыми пероральными антикоагулянтами». Закончившееся досрочно исследование REALIGN [4] продемонстрировало повышение риска тромбоза протезированного клапана сердца на фоне терапии дабигатраном и поставило точку в вопросе о возможности использования НОАК у данной категории больных. Целевой уровень антикоагуляции и срок терапии определяется типом клапанного протеза и наличие сопутствующих факторов риска. За исключением установки биопротеза больным, требующего антикоагулянтной терапии на три месяца, все остальные случаи требуют пожизненной антикоагулянтной терапии. Целевой диапа-

зон МНО в большинстве случаев составляет 2,5–3,5. Исключение составляет имплантация современного протеза аортального клапана (типа “Saint-Jude”) у больного без дополнительных факторов риска тромбоэмболических осложнений, когда целевой диапазон достаточен 2,0–3,0.

Назначение варфарина при лечении и профилактике рецидивов венозного тромбоза

Пациентам с острым тромбозом глубоких вен или тромбоэмболией легочной артерии начинают лечение с использованием парентеральных антикоагулянтов. Эксперты American College of Chest Physicians (ACCP) [3] выступают за раннее начало терапии варфарином в тот же день или через 1–2 дня после начала гепаринотерапии.

Минимальная длительность лечения варфарином (рекомендованная для больных, перенесших первый эпизод ТГВ/ТЭЛА, связанных с провоцируемыми хирургическими или нехирургическими факторами) составляет три – шесть месяцев месяца. Для пациентов, имеющих высокий риск рецидива тромбоза и низкий или умеренный риск кровотечений, рекомендовано продолжать антикоагулянтную терапию дольше этого срока.

Альтернативой терапии варфарином у больных, перенесших ТГВ/ТЭЛА, могут служить НОАК. В нашей стране показания к лечению ТГВ/ТЭЛА зарегистрированы для двух препаратов этой группы – ривароксабана и дабигатрана.

Таким образом, среди пероральных антикоагулянтов варфарин имеет наибольший клинический опыт, включая назначение больным с тяжелой сопутствующей патологией (в том числе пациентам пожилого возраста, больным с полиорганной патологией и тяжелой почечной недостаточностью).

АВК (варфарин) не имеет альтернативы для больных с клапанными пороками сердца и после установки механических протезов клапанов. Эксперты ACCP в рекомендациях 2012 года препаратом первого выбора для длительной терапии у больных с ВТЭО, оставили варфарин (за исключением возникновения венозного тромбоза на фоне онкологического заболевания, где лучше отдавать предпочтение гепаринам с низким молекулярным весом).

В отношении больных с ФП европейские эксперты больным, еще не получающим антикоагулянты, рекомендуют отдавать предпочтение НОАК из-за отсутствия потребности в лабораторном контроле и лучшему профилю безопасности.

Действительно, при сравнении с варфарином использование НОАК (апиксабана, обеих доз дабигатрана и ривароксабана) в целом сопряжено с меньшим риском таких жизнеугрожающих осложнений как геморрагический инсульт

и внутричерепное кровоизлияние. Однако, абсолютное число данных грозных осложнений уступает числу нецеребральных кровотечений, риск которых повышается при использовании любой антитромботической терапии. При оценке профиля безопасности конкретного препарата необходимо учитывать, что на основании учета совокупной частоты крупных кровотечений безопасность дабигатрана в дозе 300 мг в сутки и ривароксабана сравнима с варфарином, а аликсабана и дабигатрана в дозе 220 мг в сутки имеет преимущество перед варфарином. Наряду с этим при использовании дабигатрана в дозе 300 мг в сутки и ривароксабана повышается относительный риск крупных кровотечений из желудочно-кишечного тракта.

Основной сложностью терапии варфарином для практического здравоохранения является необходимость регулярного лабораторного контроля МНО. С другой стороны, именно лабораторный контроль позволяет определить степень антикоагулянтного действия у конкретного пациента, что бывает важно в случаях развития кровотечения или перед хирургическим вмешательством.

Таким образом, учитывая накопленные данные, большой клинический опыт, а также принимая во внимание, что цена варфарина гораздо ниже НОАК, что особенно важно при учете пожизненной терапии, для практического здравоохранения варфарин остается основным пероральным антикоагулянтом для постоянного приема.

2. Механизм действия и генетические факторы, определяющие чувствительность к варфарину

Механизм действия варфарина

Механизм действия варфарина состоит в ингибировании посттрансляционного γ -карбоксилирования 4-х витамин К-зависимых факторов системы свертывания крови (протромбина, факторов VII, IX и X), а также протеина С и протеина S. При терапии антагонистами витамина К факторы свертывания крови, секретируемые гепатоцитами, содержат сниженное количество остатков γ -карбоксиглутаминовой аминокислоты (PIVKA – белки, образующиеся при дефиците витамина К). Они обладают сниженной способностью к активации в Ca^{2+} – зависимых реакциях системы свертывания крови, что приводит к развитию состояния гипокоагуляции.

Варфарин после всасывания и абсорбции в желудке и тощей кишке прочно и обратимо связывается с плазменным альбумином, достигает почек и филь-

труется клубочками. Молекулы свободного варфарина, не связанные с альбумином, метаболизируют в печени путем гидроксилирования с образованием неактивных метаболитов. Период полужизни варфарина, составляет около 40–50 часов, однако его антикоагулянтное действие может сохраняться и в течение более продолжительного времени после отмены препарата.

Генетические факторы, определяющие чувствительность к варфарину

Основным ферментом биотрансформации варфарина в печени является изофермент цитохрома P-450 *CYP2C9*, а молекулой-мишенью является 1 субъединица витамин К-эпоксидредуктазного комплекса (*VKORC₁*). В настоящее время является доказанным, что доза варфарина генетически детерминирована. Именно полиморфизмы *CYP2C9* и молекулы-мишени *VKORC₁* обуславливают различия в величине индивидуальной поддерживающей дозы варфарина.

Наибольшее число исследований посвящено влиянию носительству аллельных вариантов *CYP2C9* на величину поддерживающей дозы и безопасность терапии АВК. Носительство «медленных» аллельных вариантов *CYP2C9*2* и *CYP2C9*3* приводит к снижению скорости биотрансформации варфарина и высокой его концентрации в плазме крови при низкой поддерживающей дозе. Очевидно, что использование стандартной схемы подбора дозы варфарина у носителей «медленных» аллельных вариантов *CYP2C9** чревато развитием чрезмерной гипокоагуляции с высоким риском кровотечений [5–10]. При этом наибольшая частота кровотечений отмечается в начале терапии.

В 2005 году были опубликованы данные метанализа Sanderson S. [11], включившего 11 исследований, посвященных изучению влияния носительства аллельных вариантов *CYP2C9*2* и *CYP2C9*3* на терапию варфарином. Суточная доза варфарина снижалась на 17 % для аллельного варианта *CYP2C9*2* и на 37 % для аллельных вариантов *CYP2C9*3*. В среднем, частота кровотечений увеличивалась в 1.77-1.91 раз при носительстве одного, и в 2,26 раза при носительстве двух «медленных» аллелей.

Частота носительства аллельных вариантов *CYP2C9*2* и *CYP2C9*3* среди пациентов, получающих варфарин, по данным исследований, проведенных на различных этнических группах, составляет около 20 % [7–8,10,12–13].

Поиск полиморфных локусов в промоторной зоне гена, кодирующего *VKORC₁*, позволил выделить две группы гаплотипов, ассоциированных с низкой и высокой чувствительностью к варфарину. В исследовании [14] было показано, что у пациентов с генотипом А/А, наблюдается снижение экспрессии гена, кодирующего *VKORC₁*, что обуславливает потребность в низких дозах

варфарина у этой категории пациентов. У пациентов с генотипом В/В наблюдается обратная ситуация: повышение экспрессии гена, кодирующего *VKORC₁*, приводит к тому, что эти пациенты нуждаются в высоких поддерживающих дозах варфарина.

В работах, выполненных как в европейских странах, так и на российской популяции [15–18] убедительно продемонстрировано, что пациентам – носителям генотипа *VKORC₁*: 3673A/A требовалась меньшая доза варфарина, и у них достоверно чаще отмечались геморрагические осложнения при терапии варфарином.

Заключение. Таким образом, в последние годы получены данные о важной роли генотипа в определении индивидуальной дозы и развитии кровотечений, обусловленных изменением метаболизма варфарина. Несмотря на то, что настоящие рекомендации выступают против рутинного генотипирования всех пациентов, еще в 2007 году FDA одобрило внесение поправки к инструкции по применению варфарина, информирующей о необходимости уменьшения стартовой дозы варфарина у пациентов – носителей аллельных вариантов *CYP2C9*2/CYP2C9*3* или генотипов *VKORC₁*: 3673 A/A или *VKORC₁*: 3673G/AA в феврале 2010 г. FDA сочла необходимым обнародовать таблицу, отражающую ожидаемые величины поддерживающих доз варфарина в зависимости от носительства аллельных вариантов *CYP2C9* и *VKORC₁*.

3. Методика генотипирования

Специальной подготовки к исследованию не требуется.

Источником генетического материала для анализа обычно служит цельная кровь, забор которой происходит в пробирку с консервантом (ЭДТА). После взятия крови пробирку несколько раз переворачивают для предотвращения образования сгустков.

Генотипирование чувствительности к варфарину проводится методом полимеразой цепной реакции (ПЦР) с анализом кривых плавления.

Данный метод молекулярной диагностики является наиболее эффективным и широко распространенным в сфере фармакогенетических исследований *invitro*. Принципиальным преимуществом его использования является возможность выявления генетически обусловленной чувствительности пациента к лекарственным веществам и определения индивидуальной дозы препарата на начальном этапе лечения.

Принцип метода ПЦР базируется на амплификации (многократном увеличении) определенных фрагментов ДНК с помощью фермента Taq-полимеразы и праймеров – искусственно синтезированных олигонуклеотидов, которые идентичны искомому участку ДНК-мишени и необходимы для начальной синтеза комплементарной цепи. Для идентификации образовавшихся продуктов амплификации (ампликонов) используются зонды – искусственно синтезированные олигонуклеотиды небольшого размера, соединенные с флуоресцентными метками. В результате специфического взаимодействия зондов с ампликонами происходит высвобождение метки и, как следствие, наблюдается флуоресценция.

Наиболее эффективным вариантом метода ПЦР на современном этапе является ПЦР с детекцией результатов в режиме «реального времени» – ПЦР-РВ. В этом случае амплификация фрагментов генов и их идентификация путем измерения флуоресценции проходят одновременно, что существенно сокращает время проведения анализа от момента взятия материала до выдачи результатов исследования. Для определения генетически обусловленной чувствительности к варфарину использование метода ПЦР-РВ особенно актуально с точки зрения возможности получения данных о фармакогенетических особенностях пациента в ближайшие сутки, так как это позволяет снизить риск развития кровотечения в результате передозировки препарата при подборе индивидуальной дозы у больных.

В основе генетических особенностей, обуславливающих индивидуальную чувствительность к варфарину, лежат одиночные нуклеотидные полиморфизмы (single nucleotide polymorphisms – SNPs) – *CYP2C9*, *VKORC1*, *CYP4F2* (подробно – см. главу IV). Для их выявления методом ПЦР в режиме «реального времени» были использованы комплекты реагентов и детектирующий амплификатор серии ДТ производства компании «ДНК-Технология».

Предлагаемый компанией «ДНК-Технология» подход позволяет минимизировать ошибку интерпретации аллельных вариантов, обеспечивает максимальную стабильность и воспроизводимость результатов.

Специально разработанное русскоязычное программное обеспечение, позволяет проводить автоматическую обработку данных и выдачу результатов исследования в удобной для интерпретации форме (рис. 1 А, Б).

Результат фармакогенетического исследования по анализируемым полиморфизмам, выполняемые методом ПЦР в режиме реального времени представлялся в буквенном виде. (рис. 1Б).

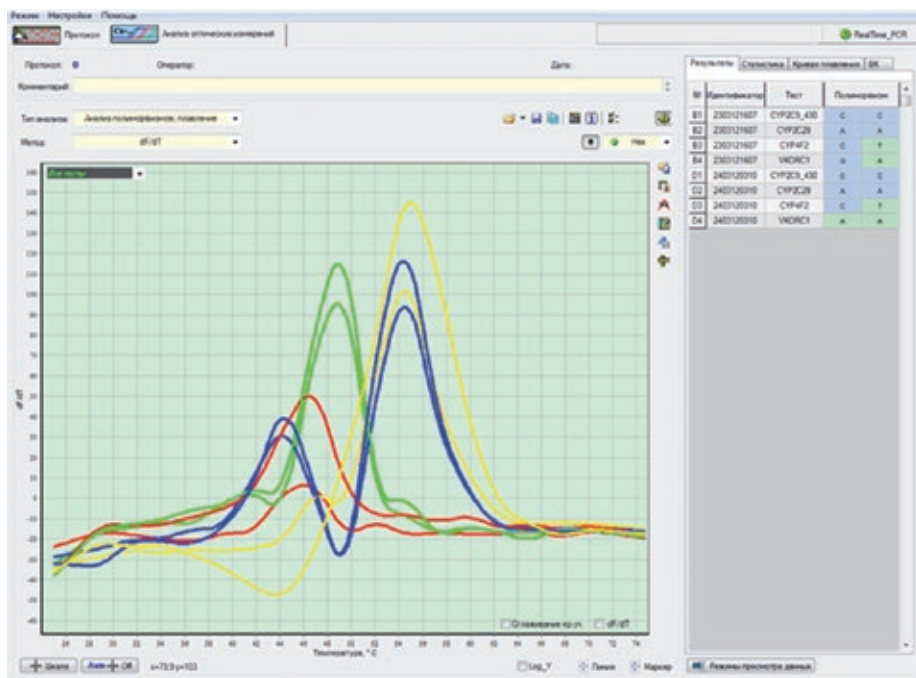


Рисунок 1А. ПЦР – анализ с использованием оборудования и программного обеспечения компании «ДНК-Технология». Кривые плавления.

№	Наименование исследования	Результаты	
		Генотип	Ср
1	CYP2C9:_430_C>T	G G	28,5
2	CYP2C9:_1075_A>C	C C	28,5
3	CYP4F2:_1347_C>T	C T	28,0
4	VKORC1:_1639_G>A	G A	28,5
1	CYP2C9:_430_C>T	C C	28,0
2	CYP2C9:_1075_A>C	A A	28,5
3	CYP4F2:_1347_C>T	C T	28,5
4	VKORC1:_1639_G>A	A A	28,0

Рисунок 1Б. Результаты ПЦР-анализа – выявленные полиморфизмы генов, определяющие чувствительность к варфарину.

Выявленный генотип пациента представлен в виде двух аллелей, обозначаемых по нуклеотидному основанию, находящемуся в данной позиции (рис. 2).

Наименование исследования	Результат
VKORC1: -1639 G>A (Субъединица 1 витамин К-эпоксид-редуктазного комплекса)	
CYP2C9: 430 C>T (Arg144Cys) (ЦитохромP450, семейство 2, подсемейство C, полипептид 9)	
CYP2C9: 1075 A>C (Ile359Leu) (ЦитохромP450, семейство 2, подсемейство C, полипептид 9)	
ГЕНОТИП CYP2C9 на основании результатов CYP2C9: 430 C>T и CYP2C9: 1075 A>C	
CYP4F2: C>T (V433M) (ЦитохромP450, семейство 4, подсемейство F, полипептид 2)	

Рисунок 2. Образец формы выдачи результатов генотипирования чувствительности к варфарину.

4. Расчет индивидуальной дозы варфарина на основании генотипирования с использованием формулы Gage

Для расчета индивидуальной дозы варфарина с учетом результатов генотипирования используется алгоритм Gage [19]. Он-лайн программа расчета дозы варфарина, основанная на данном алгоритме, представлена на сайте www.warfarindosing.org. Мы также предлагаем собственный калькулятор, основанный на формуле Gage (диск с соответствующим программным обеспечением прилагается к настоящему пособию).

Для расчета индивидуальной дозы варфарина в соответствии с формулой Gage учитывается следующая информация – рисунок 3.

1. Демографические и клинические параметры: возраст в годах, вес в кг, рост в см, пол, раса, курение в настоящее время

2. Показания, целевое МНО и сопутствующая терапия: показание для назначения варфарина, целевое МНО, прием статинов, прием амиодарона. Амиодарон повышает чувствительность больных к варфарину. Пациентам, принимающим амиодарон, требуется меньшая доза варфарина. Учитывая длительный период полувыведения препарата необходимо учитывать опыт приема в течение последних четырех недель.

Рисунок 3. Калькулятор расчета индивидуальной дозы варфарина.

3. Данные генетического исследования.

VKORC₁ -1639 C>T

VKORC₁ – аббревиатура названия гена, который кодирует субъединицу 1 комплекса эпоксид-редуктазы витамина К, представляющую собой ключевой фермент цикла витамина К. Дозировка Варфарина коррелирует с наличием SNP в позиции – 1639 п.н. промоторной области гена *VKORC₁* (rs9923231 C>T, иногда обозначаемый как 3673). Часто встречается обозначение этого полиморфизма по комплементарной цепи ДНК, т.е. G>A.

CYP2C9

Аббревиатура *CYP2C9* расшифровывается как цитохром P450 семейство 2 подсемейство С полипептид 9. *CYP2C9* – это фермент, участвующий в метаболизме S-Варфарина. Полиморфизм гена *CYP2C9* ассоциирован с различной функциональной активностью фермента. Самый распространенный вариант

гена (аллель) обозначается *CYP2C9*1*. Пациенты, имеющие наряду с аллелем *CYP2C9*1* одну копию аллеля *CYP2C9*2* (т.е. *CYP2C9*1/*2*) отличаются медленным метаболизмом S-Варфарина; гомозиготы *CYP2C9*2* (обозначается как *CYP2C9*2/*2*) или носители как минимум одной копии *CYP2C9*3* – очень медленным.

CYP4F2 V433M

Цитохром P450, семейство 4, подсемейство F, полипептид 2 (*CYP4F2*) функционирует как оксидаза витамина K1. У носителей варианта T полиморфизма *CYP4F2 V433M* (rs2108622 C>T) эта функция снижена, что приводит к необходимости увеличения дозы варфарина.

Расчет дозировки варфарина.

В результате расчета индивидуальной дозы варфарина на основании генотипирования и клинико-демографических показателей может быть получено два варианта ответов (рис. 4):

- 1) одно значение – поддерживающая доза
- 2) два значения – начальная насыщающая и поддерживающая дозы.

The image shows two side-by-side screenshots of a software application titled "Расчет дозировки варфарина" (Warfarin Dosage Calculation). Both windows have a "Справка" (Help) button in the top left corner. The input fields are identical in both: Age 75 лет, Sex Мужской, Weight 80 кг, Race Европейская, Height 170 см, Smoking Нет. The "Показание" (Indication) is "ТГБ/ТЭЛА" in the left window and "другое" in the right window. "Аналодон" is "Нет" in the left and "Да" in the right. "Целевое МНО" (Target INR) is 2.5 in both. The genetic profiles differ: VKORC1-1639 is "CC" in the left and "TT" in the right; CYP2C9 is "*1/*1" in the left and "*3/*3" in the right; CYP4F2 V433M is "CC" in the left and "TT" in the right. A "Рассчитать" (Calculate) button with a red plus icon is present in both. The results at the bottom are: Left window shows "Поддерживающая доза: 5.9 мг/день"; Right window shows "Поддерживающая доза: 1.2 мг/день" and "Начальная насыщающая доза 2.6 мг/день".

Рисунок 4. Два варианта ответов расчета индивидуальной дозы варфарина на основании генотипирования и клинико-демографических показателей в соответствии с формулой Gage.

Таким образом, в настоящее время для варфарина существует возможность персонализации лечения на основе расчета индивидуальной дозы варфарина по результатам генотипирования, и выполнение генотипирования в настоящее время в России возможно в условиях реальной клинической практики.

В последнее время в ряде стран Европы и США получены результаты подбора дозы варфарина на основании генотипирования [19–21]. Однако полностью переносить эти данные на население Российской Федерации невозможно, так как в каждой стране имеются определенные расовые отличия. Накопленные данные явились предпосылками российского проспективного исследования по изучению фармакогенетического подхода к терапии варфарином.

5. Исследование «Варфаген»

В данной главе будут представлены результаты исследования **Варфаген** – рандомизированного, проспективного исследования по сравнению фармакогенетического и стандартного подходов к подбору дозы варфарина с целью оптимизации периода достижения терапевтических значений, стабильности МНО и частоты кровотечений в российской популяции пациентов, нуждающихся в терапии АВК.

Цель исследования было сравнить фармакогенетический и стандартный подходы к подбору дозы варфарина в отношении скорости достижения терапевтических значений МНО, стабильности его значений и частоты кровотечений в российской популяции.

В исследовании приняли участие города: Архангельск, Вятка, Москва, Нижний Новгород, Новосибирск, Санкт-Петербург, Челябинск.

В исследование включались пациенты старше 18 лет, нуждающиеся в длительной антикоагулянтной терапии, ранее не принимавшие варфарин или принимавшие его без достижения целевых значений МНО.

Критерии включения:

I. возраст старше 18 лет

II. Наличие показаний к терапии варфарином:

1. ФП при наличии

- хотя бы одного из следующих факторов риска (перенесенный ИИ / ТИА/ системные эмболии, артериальная гипертония, симптомы сердечной недостаточности или бессимптомное снижение фракции выброса левого желу-

дочка менее 40 % , сахарный диабет, возраст старше 75 лет)

- сочетания одного из “клинически – связанных небольших” факторов риска по шкале CHA2DS2-VASc (возраст 65–74 лет, женский пол, инфаркт миокарда, атеросклероз периферических артерий, атеросклероз аорты) с одним из факторов, указанных выше
- стеноза левого АВ отверстия

2. Протезированный клапан сердца, требующий терапии варфарином.

3. Перенесенные ТГВ и/или ТЭЛА давностью до 3-х месяцев или неопределенной давности, требующие, по мнению врача, терапии варфарином.

III. Больной ранее не принимал варфарин или была попытка его назначения, но целевые значения МНО не достигались.

Критерии исключения

- традиционные противопоказания к терапии варфарином и состояния, потенциально опасные развитием кровотечений при антикоагулянтной терапии (см. табл. 1)

Таблица 1

Критерии исключения из исследования Варфарген:

1. Непереносимость или аллергия на варфарин	13. Уровень креатинина крови >300 ммоль/л, скорость клубочковой фильтрации менее 30 мл/мин
2. Беременность	14. Высокая артериальная гипертония, устойчивая к медикаментозному лечению (АД на фоне гипотензивной терапии $\geq 150/90$ мм ртст)
3. Нарушения в системе свертывания крови, приводящие к повышенной кровоточивости	15. Внутримозговые аневризмы и сосудистые мальформации по данным магнитно-резонансной томографии головного мозга
4. Тромбоцитопения (количество тромбоцитов менее 100 000 клеток/мкл)	16. Расслаивающая аневризма аорты
5. Недавняя (до 3-х месяцев) или планируемая в ближайшее время (на период исследования) операция	17. Перикардит или выпот в перикарде за исключением небольшого выпота (не более 150 мл по данным ЭХОКГ) у больных с хронической сердечной недостаточностью
6. Недавняя (до 3-х месяцев) травма	18. Бактериальный эндокардит
7. Признаки активного кровотечения любой локализации	19. Установленный диагноз злокачественного новообразования на момент включения
8. Геморрагический инсульт в анамнезе	20. Необходимость в постоянном приеме нестероидных противовоспалительных препаратов
9. Серьезные геморрагические осложнения (желудочно-кишечное кровотечение, макрогематурия, метроррагия) в предшествующие 6 месяцев	21. Отсутствие возможности лабораторного контроля МНО
10. Язвенная болезнь желудка или двенадцатиперстной кишки в стадии обострения	22. Злоупотребление алкоголем
11. Портальная гипертензия с варикозным расширением вен пищевода	23. Деменция
12. Нарушение функции печени с более чем трехкратным повышением уровня АЛТ, АСТ или повышением уровня общего билирубина более чем в два раза от верхней границы нормы	24. Неустойчивость в вертикальном положении с риском частых падений (паркинсонизм, эпилепсия и другие заболевания, сопровождающиеся судорогами)

Исследование было запланировано как мультицентровое, проспективное, рандомизированное. Рандомизация осуществлялась в порядке 1:1 врачом-исследователем. Длительность периода наблюдения составила 6 месяцев.

Пациентам фармакогенетической группы (ФГ – группа 1) подбор дозы варфарина осуществлялся после получения результатов генотипирования на основании формулы Gage с использованием прилагаемого калькулятора (см. главу IV). Титрование дозы было возможно с 5 суток приема варфарина. Больным стандартной группы (СГ – группа 2) подбор дозы варфарина проводился на основании существующего стандартного алгоритма со стартовой дозой 5 мг в сутки. Титрование дозы варфарина после получения очередного результата МНО проводилось в соответствии с российскими рекомендациями по анти-тромботической терапии у больных со стабильными проявлениями атеротромбоза от 2009 года.

Конечные точки исследования:

- Геморрагические осложнения (большие и малые кровотечения)
- Количество дней, потребовавшееся для достижения терапевтического диапазона МНО (получение двух близких последовательных значений)
- Процент значений МНО, выходящих за пределы терапевтического диапазона
- Время нахождения значений МНО в терапевтическом диапазоне
- Разница между дозой рассчитанной по алгоритму Gage и реальной терапевтической дозой у больных стандартной группы.

Классификация геморрагических осложнений:

Кровотечение характеризовалось как большое, если оно было фатальным, потребовало госпитализации, переливания крови или ее компонентов, привело к гипотонии со снижением систолического АД менее 90 мм рт.ст. или серьезной анемии (снижение уровня гематокрита менее 20 %) или к необратимой потере функции органа. Для установки диагноза большого кровотечения достаточно одного из перечисленных признаков.

Любое другое кровотечение, не потребовавшее госпитализации, дополнительного обследования и лечения, не приведшее к развитию серьезной анемии, классифицируется как малое. Незначительная десневая кровоточивость не считалась геморрагическим осложнением.

Дизайн исследования Варфаген представлен на рисунке 6.

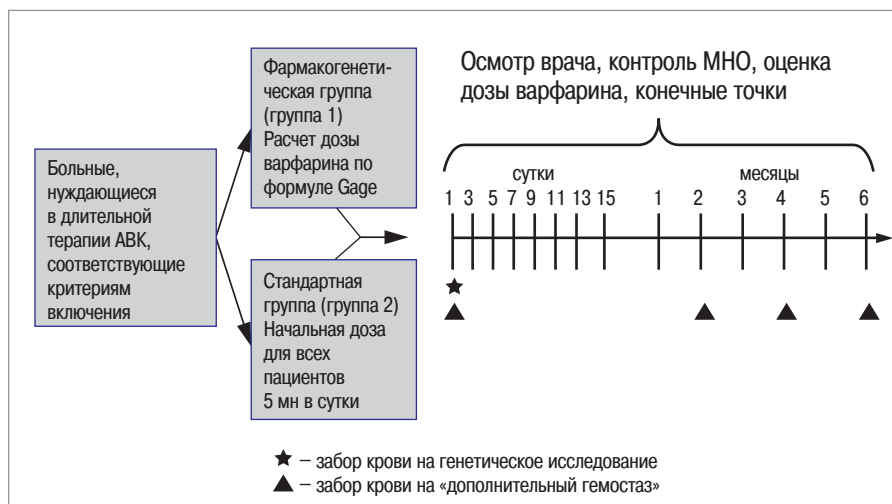


Рисунок 6. Дизайн исследования Варфарген.

Методы исследования

Генотипирование

Генотипирование проводилось методом, основанным на полимеразной цепной реакции (см подробно соотв. раздел). Анализировались полиморфизмы следующих генов: *CYP2C9*, *CYP4F2* и *VKORC1*. Взятие крови на генетический анализ осуществлялось на визите рандомизация. В фармакогенетической группе генотипирование проводилась в день забора крови. В стандартной группе в день забора крови проводилась заморозка биообразцов для последующего генетического анализа в плановом порядке.

Контроль МНО

Значения МНО определялись с помощью автоматических анализаторов с использованием реактивов STA/Neoplastin, SysmexCA-500/TromborelS и ACL-7000/PTfibrinogen HS plus. Во всех лабораториях на этапе предварительной подготовки была проведена стандартизация методов определения МНО.

Время нахождения значений МНО в терапевтическом диапазоне (Time in Therapeutical Range – TTR) рассчитывалось традиционным методом, как число значений МНО, разделенное на общее число измерений за время наблюдения. Результат представлялся в виде процентов.

Статистическая обработка результатов

Статистический анализ данных проводился с использованием системы SAS (Statistical Analysis System). Для оценки достоверности межгрупповых различий был использован непараметрический критерий Манна-Уитни, а также точный критерий Фишера и критерий χ -квадрат. Для определения прогностической значимости показателей использовалась процедура пошагового дискриминантного анализа. Использовались общепринятые критерии достоверности различий.

Клиническая характеристика больных

Всего в исследование было включено 283 пациента. В период от визита-скрининга до 14 дней от начала лечения выбыло 20 больных по причинам, не связанным с развитием тромботических или геморрагических осложнений. Окончательному статистическому анализу было подвергнуто 263 пациента (136 мужчин) в возрасте от 21 до 83 лет. Клиническая характеристика больных представлена в таблице 2.

Таблица 2

Клиническая характеристика больных

Признак	Значение
Средний возраст, лет $M \pm \delta$	61,3 $\pm$ 12,1
Возраст > 75 лет, n (%)	34 (12,9)
Муж/жен, n (%)	136/127 (51,7/48,3)
Показания к приему антикоагулянтов:	
– Фибрилляция предсердий, n (%)	176 (66,9)
– ТГВ/ТЭЛА, n (%)	60 (22,8)
– митральный стеноз/искусственный клапан сердца, n (%)	22 (8,4)
– тромбоз левого желудочка, n (%)	5 (1,9)
Риск тромбоэмболических осложнений:	
– средний балл по шкале CHA ₂ DS ₂ -VASc (для больных с ФП), $M \pm \delta$	3,7 $\pm$ 1,69
– Кол-во больных с числом баллов по шкале CHA ₂ DS ₂ -VASc ≥ 2 (для больных с ФП), $M \pm \delta$	163 (92,6)

– ИИ/ТИА/системные эмболии в анамнезе, n (%)	49 (18,6)
– Хроническая сердечная недостаточность, n (%)	52 (19,8)
– ИБС *, n (%)	95 (36,1)
– Сахарный диабет, n (%)	37 (14,0)
– Артериальная гипертензия, n (%)	214 (81,4)
Риск кровотечений:	
– Средний балл по шкале HAS-BLED, M±δ	1,58±1,0
– Кол-во больных с числом баллов по шкале HAS-BLED ≥3, n (%)	43 (16,34)
– Большие кровотечения в анамнезе, n (%)	16 (6,0)
– Малые кровотечения в анамнезе, n (%)	43 (16,3)
– Язвенная болезнь желудка или двенадцатиперстной кишки/эрозивный гастрит в анамнезе, n (%)	70 (26,6)

ТИА – транзиторная ишемическая атака, ИБС – ишемическая болезнь сердца

** острый коронарный синдром в анамнезе или стабильная стенокардия в настоящее время*

Основным показанием для включения в исследование являлась ФП – таких пациентов в исследовании было 66,9 %. В соответствии с современными представлениями о стратификации риска инсульта у больных с ФП, пациенты нашего исследования могут быть отнесены к категории высокого риска инсульта. Средний балл по шкале CHA₂DS₂-VASc составил 3,7±1,69, а 92,6 % имели количество баллов ≥2.

Вторым по частоте встречаемости показанием для назначения варфарина был перенесенный ТГВ или ТЭЛА. Всего таких больных было включено 22,8 %, при этом большинство больных перенесли ТГВ – 19,7 %.

Наличие клапанного протеза или стеноза левого АВ отверстия имелось у 8,4 %. И у 4 больных (1,9 %) основанием для назначения варфарина послужил тромбоз полости левого желудочка.

Среди факторов риска сердечно-сосудистых осложнений наиболее часто встречалась артериальная гипертензия, ИБС и распространенный атеросклероз с поражением нескольких сосудистых бассейнов. Артериальная гипертензия встречалась у подавляющего большинства включенных пациентов – у 81,4 % больных. Анамнез ИБС был выявлен у 36,1 % больных. Сахарным диабетом страдали 14,0 % больных.

Все пациенты были оценены по шкале HAS-BLED для определения риска геморрагических осложнений. Средний балл составил $1,58 \pm 1,0$, при этом 16,3 % больных относились к категории высокого риска кровотечения, имея ≥ 3 баллов по шкале HAS-BLED. Большие кровотечения в анамнезе имелись у 6,1 % больных, а малые геморрагические осложнения переносили 16,3 % пациента.

Наибольшее значение в качестве потенциального источника кровотечения имеет патология желудочно-кишечного тракта. Анамнез язвенной болезни желудка/ двенадцатиперстной кишки или эрозивного гастрита имелся у четверти пациентов. При этом обязательным критерием включения являлось отсутствие обострения данной патологии.

Сопутствующий прием антиагрегантной терапии не являлся ограничением для включения пациента в исследование Варфаген. При наличии клинических показаний больные могли принимать комбинированную антитромботическую терапию. При этом, подавляющее большинство (84,8 %) получали монотерапию варфарином, 11 % больных получали двойную терапию (комбинацию варфарина и АСК или варфарина и клопидогрела). Число пациентов, включенных в наше исследование после перенесенного ОКС или ЧКВ, и принимающих таким образом тройную антитромботическую терапию, было незначительно – всего 4,2 %.

Время нахождения МНО в терапевтическом диапазоне

Нахождение значений МНО в пределах целевого диапазона было обязательным условием исследования для всех больных. Процент нахождения значений МНО в пределах терапевтического диапазона (TTR) у всех больных, включенных в исследование, составил в среднем $69,1 \pm 16,6$ %.

Однако, так как исследование отражало реальную клиническую практику в исследовании были пациенты, целевые значения МНО у которых были ниже желаемых. (табл. 3)

**Время нахождения значений МНО в терапевтическом диапазоне
за 6 месяцев терапии**

Центр	% МНО в целевом диапазоне за 6 месяцев	Время нахождения значений МНО в терапевтическом диапазоне, min-max, %
Все больные, включенные в исследование, $M \pm \delta$	$69,1 \pm 16,6$	$33,0 \pm 92,3$
Центр 01 Архангельск	43,1 %	25,0–75,0
Центр 02 Вятка	77,5 %	30,7–100,0
Центр 04 Москва Кардиоцентр	75,3 %	33,0–100,0
Центр 05 Москва УДП	82,7 %	58,0–100,0
Центр 06 Нижний Новгород	51,4 %	40,0±60,0
Центр 07 Новосибирск	68,2 %	33,3±100,0
Центр 10 Санкт-Петербург	79,2 %	69,2–80,0
Центр 11 Челябинск	91,9 %	60,0–100,0

Сопоставимость исследуемых групп

В фармакогенетическую группу было включено 127 больных, в стандартную группу – 136 больных. Сравниваемые группы не различались по возрасту, полу и основному заболеванию, послужившему основанием для назначения варфарина, а также по наличию сопутствующих ИБС, АГ, хронической сердечной недостаточности и сахарного диабета. Степень риска тромбоэмболических осложнений у больных ФП была сопоставима.

По степени риска геморрагических осложнений группы были сопоставимы. Число больных, имевших патологию желудочно-кишечного тракта, большие и малые геморрагии в анамнезе в обеих группах было практически одинаковым.

Число пациентов, принимавших Варфарин в сочетании с одним или двумя антиагрегантами, не различалось между группами.

Таблица 4

**Сравнительная характеристика больных, включенных
в фармакогенетическую и стандартную группы лечения**

Признак	ФГ (n= 127)	СГ (n =136)	p
Средний возраст, лет, М±δ	59,9±13,0	62,6±11,0	НД
Муж/жен, n (%)	59/68 (46,5/53,5)	77/59 (56,6/43,3)	НД
Показания к приему антикоагулянтов:			
– Фибрилляция предсердий, n (%)	83 (65,4)	93 (68,4)	НД
– ТГВ/ТЭЛА, n (%)	28 (22,0)	32 (23,5)	НД
– Митральный стеноз/ искусственный клапан сердца, n (%)	12 (9,4)	10 (7,4)	НД
– Тромбоз полости ЛЖ, n (%)	4 (3,1)	1 (0,7)	НД
Риск тромбоемболических осложнений			
– Средний балл по шкале CHADSVASc (для больных с ФП), М±δ	3,8±1,78	3,5±1,52	НД
– Кол-во больных с числом баллов по шкале CHADSVASc≥2 (для больных с ФП), М±δ	77 (92,8)	86 (92,5)	НД
– ИИ/ТИА/системные эмболии в анамнезе, n (%)	27 (21,3)	22 (16,2)	НД
– ХСН, n (%)	27 (21,3)	25 (18,4)	НД
– ИБС, n (%)	48 (37,8)	47 (34,6)	НД
– Сахарный диабет, n (%)	21 (16,5)	16 (11,8)	НД
– АГ, n (%)	98 (77,2)	116 (85,3)	НД
Риск кровотечений			
– Средний балл по шкале HASBLED, М±δ	1,54±1,1	1,62±0,90	НД
– Кол-во больных с числом баллов по шкале HASBLED≥3, М±δ	22 (17,3)	21 (15,4)	НД
– Большие кровотечения в анамнезе, n (%)	9 (7,1)	7 (5,1)	НД
– Малые кровотечения в анамнезе, n (%)	20 (15,8)	23 (16,9)	НД
– Язвенная болезнь/эрозивный гастрит в анамнезе, n (%)	38 (29,9)	45 (33,1)	НД
– Частота назначения двойной/тройной АТТ, n (%)	20 (15,8)	20 (14,4)	НД

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Как известно, большинство европейского населения является носителями «дикого» генотипа *CYP2C9*1*. Включенные в исследование Варфаген пациенты проживали на территории центральных, северных и восточного регионов России (города Архангельск, Вятка, Москва, Нижний Новгород, Новосибирск, Санкт-Петербург, Челябинск), и подавляющее большинство относились к европеоидной расе. Большинство пациентов, включенных в исследование (68,1 %), являлись носителями генотипа *CYP2C9*1*. Частота носительства аллельных вариантов *CYP2C9*2* и *CYP2C9*3* среди пациентов, включенных в наше исследование, представлена в таблице 5. Наиболее частыми аллельным и вариантам были *CYP2C9 *1/*2* и *CYP2C9*1/*3*, на долю которых пришлось 27 %. Частота аллельных вариантов **2/*2*, **2/*3* и **3/*3*, как и в других исследованиях, было невелико и составило 4,9 %.

При оценке генотипа *VKORC₁*, было выявлено, что наиболее частыми аллельными вариантами гена являются G/G и G/A, на долю которых приходится 39,1 и 44,9 % соответственно. Частота гомозиготного генотипа *A/VKORC₁*, составила 15,9 %.

Таблица 5

Распределение генотипов *CYP2C9* и *VKORC₁* в исследуемой группе

	<i>CYP2C9</i>						
<i>VKORC₁</i>	<i>*1/*1</i>	<i>*1/*2</i>	<i>*1/*3</i>	<i>*2/*2</i>	<i>*2/*3</i>	<i>*3/*3</i>	Всего <i>VKORC₁</i>
G/G	27,4	8,7	2,7	0,38	0	0	39,1
A/G	29,7	4,2	7,2	1,1	2,7	0	44,9
A/A	11	1,5	2,7	0	0,38	0,38	15,9
Всего <i>CYP2C9</i>	68,1	13,8	12,6	1,48	3,08	0,38	100

Примечание. Цветом выделены аллельные варианты, обуславливающие значимое нарушение чувствительности к варфарину (аллельные варианты **2/*2*, **3/*3*, **2/*3* *CYP2C9*, A/A *VKORC₁*, или одновременное носительство двух гетерозиготных генотипов *CYP2C9* и *VKORC₁*).

Различные комбинации носительства полиморфизмов в обоих генах *CYP2C9* и *VKORC₁*, было выявлено в 20,2 % случаев. Предшествующие исследования [16, 20–21] показали, что из всех возможных сочетаний, наиболее значимыми в отношении риска развития чрезмерной гипокоагуляции и геморрагических осложнений являются носители гомозиготных полиморфизмов в любом из ука-

занных генов или сочетания носительства гетерозиготных вариантов *CYP2C9* и *VKORC*₁. Как показано в таблице, количество таких больных составило 31,5 %. Нами также подтверждено, что для данной категории больных характерна наименьшая суточная доза варфарина по сравнению с носительством других аллельных вариантов (табл. 6).

Таблица 6

Носительство генетических вариантов *CYP2C9* и *VKORC*₁ и поддерживающая доза варфарина через 1 и 6 месяцев лечения

Сочетание генотипов, влияющих на дозу варфарина Суточная доза, мг/д, М±δ	«Дикий» генотип	Гетерозиготный полиморфизм*	Гомозиготный полиморфизм по любому из аллелей или сочетание гетерозиготных полиморфизмов*
Через 1 мес терапии,	7,4±2,37*	5,7±1,86	3,7±1,78*
Через 6 месяцев терапии	7,7±2,45**	6,1±2,22	3,7±1,86**

* – p=0,03, ** – p=0,032

– полиморфизм по аллельным вариантам *CYP2C9**2, *CYP2C9**3 или *VKORC*₁

Результаты генотипирования *CYP4F2* представлены на рисунке 7.

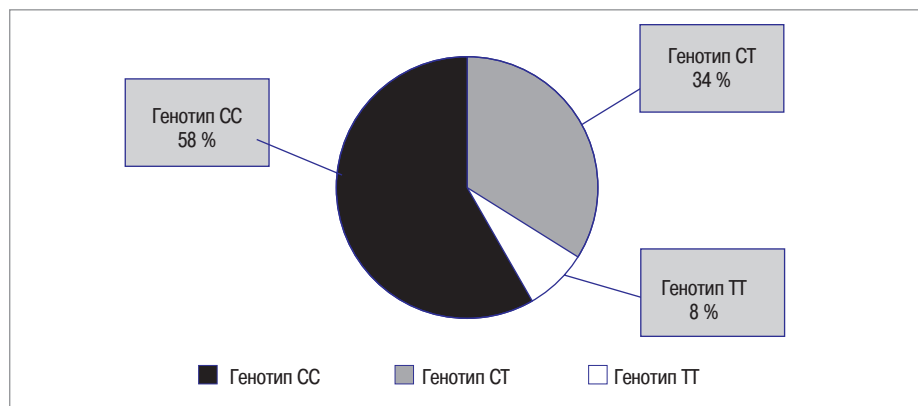


Рисунок 7. Распределение генотипов *CYP4F2*.

Наибольшее число пациентов являлось носителями генотипа C/C – 58,6 %. Частота носительства гетерозиготного генотипа составила – 33,8 %, а гомозиготного T/T – 7,6 %.

При изолированной оценке влияния генотипа *CYP4F2* на суточную дозу варфарина достоверной разницы в значениях через 1 и 6 месяцев терапии выявлено не было (табл. 7).

Таблица 7

**Носительство генетических вариантов *CYP4F2*
и поддерживающая доза варфарина через 1 и 6 месяцев лечения**

	Генотип С/С	Генотип С/Т	Генотип Т/Т
Суточная доза к 1 месяцу терапии, мг/д, М±δ	5,45±2,35	5,5±2,46	5,8±3,15
Суточная доза к 6 месяцу терапии, мг/д, М±δ	5,8±2,45	5,7±2,86	5,7±3,08

Полученные ранее данные [22–24] свидетельствуют о том, что носительство варианта Т/Т гена *CYP4F2:1297C>T* (Val433Met) (rs2108622) приводит к необходимости увеличения дозы варфарина, однако степень влияния данного фермента определяет разницу не более чем в 10–20 % по сравнению с вариантом С/С. Отсутствие статистической значимости между генотипом *CYP4F2* и суточной дозой варфарина в рамках нашего исследования, вероятнее всего, можно объяснить небольшим числом пациентов-носителей варианта Т/Т.

СРАВНЕНИЕ ФАРМАКОГЕНЕТИЧЕСКОГО И СТАНДАРТНОГО ПОДХОДОВ К ПОДБОРУ ДОЗЫ ВАРФАРИНА

По результатам сравнения фармакогенетический подход оказался более эффективен в отношении времени достижения целевого МНО, а также в отношении стабильности данного показателя (табл. 8).

Время достижения терапевтической дозы варфарина, определяемое как достижение стабильных значений МНО внутри целевого диапазона в сутках, было достоверно меньше в ФГ группе. Надо отметить, что среднее значение данного показателя при фармакогенетическом подходе составило 12,3±4,6 суток, что подтверждает факт необходимости определенного времени для достижения стабильного антикоагулянтного эффекта варфарина, независимо от способа определения индивидуальной дозы. При этом 70,1 % больных ФГ смогли достичь целевых значений МНО к 14 дню терапии. В стандартной группе только у четверти больных к двум неделям удалось подобрать индивидуальную дозу варфарина с достижением целевых значений МНО. (табл. 8)

Стабильность значений МНО на протяжении терапии отражает такой показатель как время нахождения внутри терапевтического диапазона – TTR. Значения TTR на протяжении 6 месяцев терапии не отличались между группами, что отражает достижение целевой дозы варфарина у всех пациентов, независимо от способа подбора терапии. При оценке значений МНО, попадающих в целевой диапазон в течение 1 месяца, было выявлено, что 67,7 % больных ФГ имели TTR>60 % за 1 месяц терапии, что было достоверно выше в сравнении с 35,3 % больных стандартной группы (табл. 8).

Таблица 8

Сравнение эффективности фармакогенетического и стандартного подходов к подбору дозы варфарина

Признак	ФГ (n= 127)	СГ (n =136)	p
Время достижения терапевтической дозы варфарина, сутки, М±δ	12,3±4,6	19,7±8,2	0,046
Доля больных, достигших целевых значений МНО к 14 суткам терапии, n (%)	89 (70,1)	35 (25,7)	<0.0001
Среднее значение TTR за 1 месяц, М±δ	67,5±19,3	49,4±22,0	НД
Доля больных, имевших TTR>60 % за 1 месяц, n (%)	86 (67,7)	48 (35,3)	0,0029
Среднее значение TTR за 6 месяцев, М±δ	73,4±18,3	70,1±19,9	НД

Фармакогенетический подход к подбору дозы варфарина продемонстрировал большую безопасность по сравнению со стандартным за счёт снижения частоты развития эпизодов чрезмерной гипокоагуляции (как бессимптомной, так и сопровождавшейся развитием кровотечений) и уменьшения частоты больших кровотечений.

Частота всех кровотечений (больших и малых) за 6 месяцев наблюдения не отличалась в обеих группах сравнения и составила 17,3 и 22,1 % в ФГ и СГ соответственно.

Всего за 6 месяцев наблюдения было зарегистрировано 6 случаев больших кровотечений. Все они произошли у пациентов стандартной группы, таким образом, их частота составила 4,4 % в год. В группе фармакогенетического подхода больших кровотечений не было отмечено.

Геморрагических осложнений, произошедших в течение 6 месяцев наблюдения на фоне повышения МНО выше 4,0, в ФГ было достоверно меньше – 4,7 % против 13,0 % в СГ ($p=0,038$).

Однако, в настоящее время получены многочисленные данные о том, что не все кровотечения на фоне терапии варфарином происходят на фоне чрезмерной гипокоагуляции [25–27]. В нашем исследовании также было отмечено, что около половины всех геморрагий (55,8 %) не были связаны с высокими значениями МНО, при этом частота подобных кровотечений была сопоставима при обоих подходах, что, вероятнее всего, связано с соматической тяжестью включенных больных.

Наиболее значимым фактором в отношении развития геморрагических осложнений является начало терапии, что обусловлено подбором индивидуальной дозы варфарина [26, 28–29]. Учитывая, что нагрузочная доза варфарина стандартна для всех больных, можно предположить, что именно в первый месяц терапии у ряда пациентов проявляется повышенная чувствительность к варфарину, обусловленная генетическими особенностями метаболизма варфарина и/или сопутствующими заболеваниями. В связи с этим кровотечения, произошедшие за 1 месяц терапии, были оценены отдельно.

При отдельной оценке всех кровотечений, произошедших на фоне повышения $\text{МНО} \geq 4,0$ за 1 месяц, также было выявлено преимущество фармакогенетического подхода. Частота всех кровотечений при $\text{МНО} > 4,0$ за 1 месяц терапии в ФГ было 3,2 %, что достоверно ниже, чем 11 % в СГ.

Наряду с симптомными эпизодами развития чрезмерной гипокоагуляции во время подбора дозы варфарина потенциально опасным является любое (в том числе бессимптомное) превышение целевого диапазона МНО. Эпизоды бессимптомного повышения $\text{МНО} \geq 4,0$ при подборе дозы варфарина за 1 месяц достоверно реже отмечались в группе фармакогенетического подхода по сравнению со стандартным алгоритмом. (11,0 % vs 30,9 %, $p=0,0017$) – см. табл. 9.

Таблица 9

**Сравнение безопасности фармакогенетического
и стандартного подходов к подбору дозы варфарина**

Признак	ФГ (n= 127)	СГ (n =136)	p
Все ГО за 6 месяцев наблюдения, n (%)	22 (17,3)	30 (22,1)	НД
БК всего за 6 мес наблюдения, n (%)	0	6 (4,4)	0,031
МК всего за 6 мес наблюдения, n (%)	22 (17,3)	24 (17,7)	НД
Все ГО (большие и малые) при МНО $\geq$ 4,0 за 6 месяцев терапии, n (%)	6 (4,7)	18 (13,3)	0,038
Все ГО (большие и малые) при терапевтических значениях МНО за 6 месяцев наблюдения, n (%)	17 (13,4)	12 (8,8)	НД
Все ГО (большие и малые) при МНО $\geq$ 4,0 за 1 месяц терапии, n (%)	4 (3,2)	15 (11,0)	0,03
Эпизоды бессимптомного повышения МНО $\geq$ 4,0 при подборе дозы варфарина за 1 месяц, n (%)	14 (11,0)	42 (30,9)	0,0017

Фармакогенетический и стандартный подбор дозы варфарина у носителей различных генетических вариантов *CYP2C9* и *VKORC*₁

Учитывая высокую частоту встречаемости сочетания полиморфных аллелей в обоих генах и продемонстрированные ранее результаты о наименьшей дозе варфарина и наихудшем профиле безопасности у пациентов – носителей сочетания полиморфизмов, эта группа пациентов нами была проанализирована отдельно. В эту подгруппу вошли пациенты, условно обозначенные нами как носители «неблагоприятного генотипа» – генотипа *CYP2C9**2/*2 или *3/*3 или 2/*3 или генотипа А/А гена *VKORC*₁, или одновременное носительство двух гетерозиготных генотипов *CYP2C9* и *VKORC*₁. Встречаемость данных комбинаций у трети обследованных пациентов позволяет говорить о значимости такого объединения.

Как показано на рисунке 8, преимущество фармакогенетического подхода в отношении безопасности и достижения МНО достоверно продемонстрировано у пациентов «неблагоприятного генотипа». При ФГ по сравнению со стандартным было достоверно меньше кровотечений при повышении МНО на 1 месяце терапии (2,3 % против 23,1 %, $p=0,0162$) и меньше эпизодов бессимптомного повышения МНО (20,9 % против 56,4 %, $p=0,034$). Уменьшение частоты крово-

течений и эпизодов чрезмерной гипокоагуляции способствовало уменьшению времени подбора терапевтической дозы варфарина. Как показано на рисунке 8 у 65,1 % носителей «неблагоприятного генотипа» фармакогенетический подход способствовал достижению МНО целевых значений к 14 дню. В то время как в СГ таких больных было достоверно меньше – 20,5 % ($p=0,0137$).

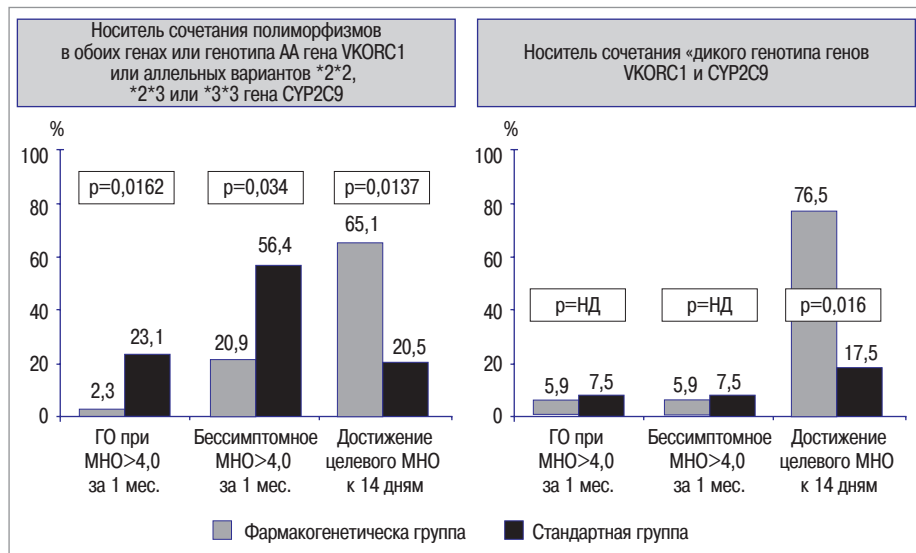


Рисунок 8. Фармакогенетический и стандартный подбор дозы варфарина у носителей генетических вариантов CYP2C9 и VKORC1.

Второй отдельно проанализированной группой были пациенты- с сочетанием генотипов CYP2C9*1/*1 и VKORC1G/G. Суммарная частота кровотечений и эпизодов бессимптомного повышения МНО у этой категории больных не высока, чем и можно объяснить, что фармакогенетический подход не показал своего преимущества в отношении безопасности терапии в данной группе. Основное преимущество генетический подход для данной категории больных продемонстрировал в отношении быстроты достижения целевых значений МНО. В фармакогенетической группе терапевтическая доза варфарина с достижением целевых значений МНО подбиралась в среднем к $12,6 \pm 4,3$ суткам, что было достоверно меньше $20,9 \pm 9,2$ суток в стандартной группе ($p=0,035$). Это способствовало тому, что в ФГ группе к 14 суткам терапии у 76,5 % больных были достигнуты целевые значения МНО, в то время как в СГ таких больных было 17,5 % ($p=0,0016$). См. рисунок 8.

Разница между дозой, рассчитанной по алгоритму Gage, и реальной терапевтической дозой

Мы сравнили разницу между реальной подобранной дозой варфарина и дозой, рассчитанной по алгоритму Gage, у всех пациентов. Значимой разницей считали, если реально подобранная терапевтическая доза отличалась от расчетной более чем на 20 %.

Реальная доза варфарина совпадала (т.е. не отличалась более чем на 20 %) рассчитанной по алгоритму у 57 % больных. Реальная доза была значимо больше у 33,9 % больных и значимо меньше у 9,1 % пациентов.

Таким образом, можно сделать вывод о том, что алгоритм Gage, основанный на клинико-генетическом расчете индивидуальной дозы, воспроизводим в реальной клинической практике в 57 % случаев.

С целью определения клинических и генетических предикторов отличия реальных и расчетных доз, был проведен пошаговый дискриминантный анализ. Было выявлено, что аллельный вариант A/A гена *VKORC₁*, и предшествующий в течение 30 дней прием амиодарона (независимо от дозы и способа введения) были значимыми предикторами того, что реальная доза варфарина будет значимо ниже рассчитанной по алгоритму (табл. 10).

Таблица 10

Предикторы уменьшения реальной терапевтической дозы по сравнению с расчетной по алгоритму

Показатель	F-критерий	p
Предшествующий в течение 30 дней прием амиодарона (независимо от дозы и способа введения)	7,78	0,005
Генотип A/A <i>VKORC₁</i>	3,8	0,043

Возможным объяснением того, что прием амиодарона – предиктор значимого уменьшения реальной дозы варфарина является недоучет врачом-исследователем всех аспектов терапии. Несмотря на то, что постоянный прием амиодарона учитывается в алгоритме Gage, врачами он обычно интерпретировался как ежедневная пероральная терапия. Часто не учитывалось внутривенное введение амиодарона и самостоятельный прием пациентом препарата для купирования аритмии. Учитывая длительность и зависимость периода полувыведения амиодарона от ряда клинических характеристик (возраст, почечная функция, масса тела), в качестве показателя для пошагового дискриминантного анализа учитывался любой способ приема амиодарона (как пероральный,

так и внутривенный), в том числе самостоятельный в дозе 600 мг и выше хотя бы однократно за 30 дней до рандомизации, а также прекращение ежедневной терапии амиодароном менее, чем за месяц до рандомизации.

Предикторами того, что реальная доза будет значимо больше расчетной оказались два показателя – отсутствие сердечной недостаточности и регулярное употребление алкоголя. (табл. 11)

Таблица 11

**Предикторы увеличения реальной терапевтической дозы
по сравнению с расчетной по алгоритму**

Показатель	F-критерий	p
Отсутствие ХСН	5,24	0,02
Регулярное употребление алкоголя	3,98	0,047

Во многих работах описано, что декомпенсация хронической сердечной недостаточности повышает чувствительность больных к варфарину и требует уменьшения его суточной дозы [30–32]. Возможным механизмом увеличения реальной дозы варфарина в сравнении с расчетной у больных без ХСН является отсутствие застойных явлений в печени со снижением ее белково-синтетической функции, что присутствует у больных с ХСН, даже при компенсации состояния.

Влияние употребления алкоголя на терапию варфарином носит разнонаправленный характер. Однократное употребление большого количества алкоголя усиливает действие варфарина и повышает риск геморрагических осложнений за счет ингибирования микросомальных ферментов печени и гипербилирубинемии, способствующих замедлению деградации кумаринов и возрастанию антикоагулянтного эффекта. Хроническое употребление алкоголя наоборот снижает антикоагулянтный эффект за счет увеличения метаболического клиренса препарата. С этих позиций представляется совершенно логичным, что регулярное употребление алкоголя является предиктором увеличения реальной терапевтической дозы варфарина по сравнению с рассчитанной на основании генотипирования.

ОСНОВНЫЕ ВЫВОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ВАРФАГЕН

1. Среди пациентов РФ, нуждающихся в приёме варфарина, суммарная частота встречаемости генотипов, определяющих значимое нарушение чувствительности к варфарину (генотипы $*2/*2$, $*3/*3$ или $*2/*3$ *CYP2C9* или генотип A/A *VKORC₁*, или одновременное носительство двух гетерозиготных генотипов *CYP2C9* и *VKORC₁*) составила 31,5 %.

2. Фармакогенетический подход к подбору дозы варфарина эффективнее стандартного подхода, так как позволяет:

- быстрее подобрать дозу варфарина с поддержанием целевого уровня МНО
- обеспечить стабильный уровень антикоагуляции уже на 1 месяце терапии варфарином (что отражает % измерений МНО, попавших в терапевтический диапазон в 1-й месяц лечения)

3. Фармакогенетический подход к подбору дозы варфарина безопаснее стандартного подхода за счёт:

- уменьшения частоты больших кровотечений за 6 месяцев
- снижения частоты кровотечений, возникающих в связи с передозировкой варфарина (при $\text{МНО} > 4,0$) в первый месяц лечения и на протяжении 6 месяцев терапии;
- уменьшения частоты эпизодов бессимптомного повышения $\text{МНО} \geq 4,0$ в первый месяц терапии

4. Преимущества фармакогенетического подхода к подбору дозы варфарина над стандартным проявились у 31,5 % больных, у которых определялись значимые генетические предикторы нарушения чувствительности к варфарину (генотипы $*2/*2$, $*3/*3$ или $*2/*3$ *CYP2C9* или генотип A/A *VKORC₁*, или одновременное носительство двух гетерозиготных генотипов *CYP2C9* и *VKORC₁*).

6. Дополнительные результаты исследования «Варфаген». Факторы, определяющие темпы насыщения варфарином и предикторы развития чрезмерной гипокоагуляции

Помимо основных целей сравнения стандартного подхода к подбору терапии варфарином с расчетом дозы на основании генотипирования, нами были поставлены следующие дополнительные задачи:

– проанализировать зависимость темпов насыщения варфарином от носительства аллельных вариантов *CYP2C9* и *VKORC*₁, и выявить предикторы развития чрезмерной гипокоагуляции, обусловленной передозировкой варфарина.

Для решения данных задач была дополнительно проанализирована «ретроспективная» когорта больных, в которую вошло 72 пациента, длительно наблюдающихся в НИИ Кардиологии. Необходимыми условиями включения пациента в ретроспективную группу были – стартовая доза варфарина 5 мг, имеющиеся данные о значении МНО в течение 6 месяцев (в соответствии с протоколом исследования Варфаген) и данные о генотипировании *CYP2C9* и *VKORC*₁.

Группы были сопоставимы по полу, возрасту, основному заболеванию, факторам риска тромбозмболических и геморрагических осложнений (табл. 12). Это позволило в дальнейшем объединить больных обеих групп для проведения единого статистического анализа.

Таблица 12

Характеристика пациентов исследования Варфаген и ретроспективной когорты, имевших стандартный алгоритм насыщения варфарином

Показатель	Исследование Варфаген (n=263)	Ретроспективная когорта (n=72)	p
Возраст, лет (M±SD)	64,4±10,2	66,6±11,8	НД
Мужчин/женщины, n (%)	136/127 (51,7/48,3)	30/42 (42,2/58,3)	НД
Фибриляция предсердий, n (%)	176 (66,9)	53 (73,7)	НД
ТГВ/ТЭЛА, n (%)	60 (22,8)	14 (19,8)	НД
Искусственный клапан сердца, n (%)	22 (8,4)	2 (2,8)	НД
Тромбоз левого желудочка, n (%)	5 (1,9)	2 (2,8)	НД
Для больных МА средний балл: – по шкале CHADS ₂	2,0±1,2	2,1±1,2	НД
– по шкале CHA ₂ DSVA ₂ Sc-Vasc	3,7±1,69	3,6±1,3	НД
Средний балл по шкале HASBLED, M±δ	1,58±1,0	1,61±1,1	НД

Известно, что потенциально опасным является любое, в том числе бессимптомное повышение $\text{МНО} \geq 4,0$. [26, 33–36]. Поэтому именно такие значения МНО были определены нами как «чрезмерная антикоагуляция». При анализе когорты больных, получавших варфарин в соответствии со стандартным алгоритмом с начальной дозой 5 мг в сутки, развитие чрезмерной гипокоагуляции отмечалось в 26,9 % случаев.

Нами была проанализирована зависимость развития чрезмерной гипокоагуляции от темпов достижения целевых значений МНО . У пациентов, имевших значения $\text{МНО} \geq 4,0$ в период подбора дозы варфарина, достижение антикоагулянтного эффекта происходило быстрее. Так, в группах больных, имевших и не имевших эпизоды чрезмерной гипокоагуляции, первое значение $\text{МНО} \geq 2,0$ регистрировалось в среднем на $4,35 \pm 1,71$ и на $10,2 \pm 5,07$ сутки от начала лечения.

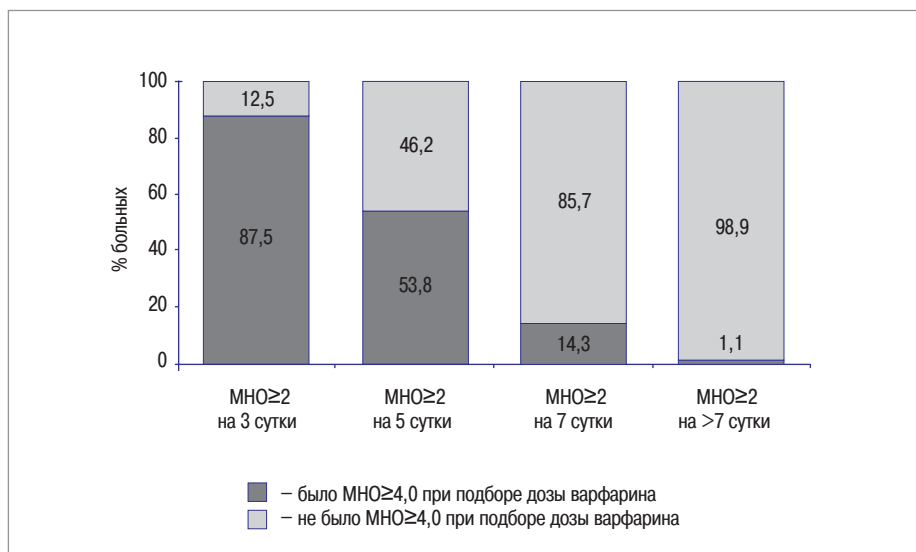
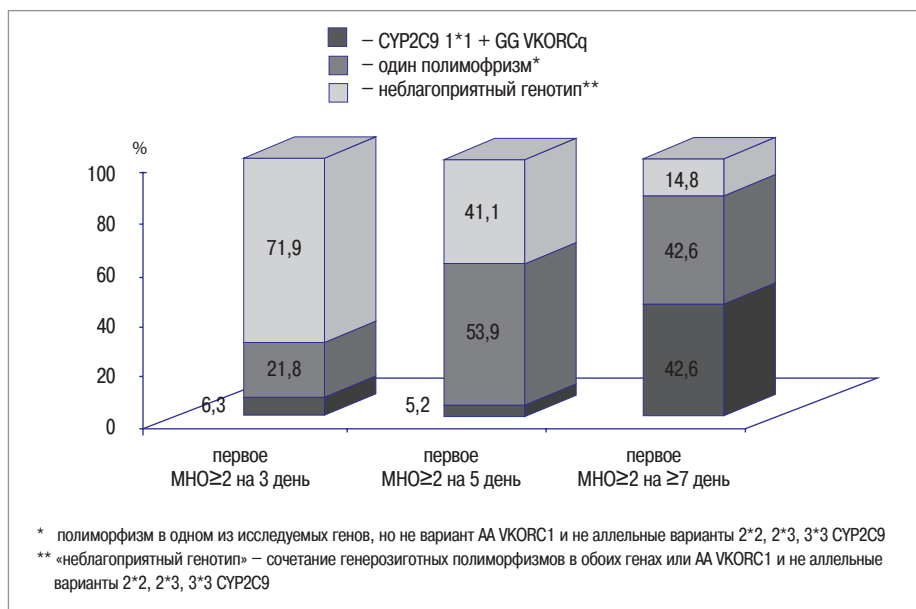


Рисунок 9. Зависимость развития передозировки варфарина ($\text{МНО} \geq 4,0$) при подборе дозы от времени первого $\text{МНО} \geq 2,0$.

Нами была отдельно проанализирована частота развития эпизодов $\text{МНО} \geq 4,0$ при подборе дозы варфарина у больных с достижением первого значения $\text{МНО} \geq 2,0$ на 3, 5, 7 и после 7 суток соответственно (рисунок 9). Была выявлена обратная зависимость между временем достижения первого значения $\text{МНО} \geq 2,0$ и эпизодами развития чрезмерной гипокоагуляции при под-

боре дозы варфарина. Наибольший процент случаев (87,5 %) $\text{MHO} \geq 4,0$ при подборе дозы варфарина был отмечен у больных, первое значение $\text{MHO} \geq 2$ у которых достигалось на 3 сутки. Достижение $\text{MHO} \geq 2,0$ на 5 сутки в 53,8 % случаев сопровождалось развитием чрезмерной гипокоагуляции ($\text{MHO} \geq 4,0$), а наименьший процент значений $\text{MHO} \geq 4,0$ (1,1 %) отмечался у больных, первое значение $\text{MHO} \geq 2,0$ было зарегистрировано после 7-х суток.

Предполагая основное влияние генотипа пациента на темпы насыщения варфарином, нами была проанализирована зависимость количества дней до первого значения $\text{MHO} \geq 2,0$ от генотипа *CYP2C9* и *VKORC1*. Оказалось, что две трети пациентов (71,9 %), имевших первое значение $\text{MHO} \geq 2,0$ на 3 сутки терапии, были носителями «неблагоприятного генотипа» *CYP2C9* и *VKORC1* (см. выше). Частота встречаемости «дикого» генотипа *CYP2C9* *1/*1 и *VKORC1* G/G в этой группе составила всего лишь 6,3 %.



**Рисунок 10. Генотип *CYP2C9* и *VKORC1* и
быстрота достижения целевых значений МНО.**

Среди больных, у которых первое значение $MHO \geq 2,0$ было зафиксировано на 7-ые сутки или позже от начала терапии, подавляющее имело сочетание «диких» генотипов *CYP2C9* *1/*1 и *VKORC₁* G/G или только один полиморфный аллель в одном из генов. Частота носительства «неблагоприятного генотипа» в этой подгруппе составила всего лишь 14,8 % (рис. 10).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ПО РАЗДЕЛУ 6

Достижение первого значения $MHO \geq 2$ на 3 сутки подбора дозы варфарина сопровождается последующим развитием чрезмерной гипокоагуляции ($MHO > 4,0$) у 87,5% больных.

Достижение первого значения $MHO \geq 2,0$ на 5 сутки подбора дозы варфарина сопровождается развитием чрезмерной гипокоагуляции ($MHO > 4,0$) у 53,8 % больных.

Достижение первого значения $MHO \geq 2$ на 3 сутки в 71,9 % случаев связано с носительством «неблагоприятного генотипа» (генотипов *CYP2C9* *2/*2, *3/*3 или 2/*3 или генотип A/A гена *VKORC₁*, или одновременное носительство двух гетерозиготных генотипов *CYP2C9* и *VKORC₁*).

Таблица 13

Предикторы развития чрезмерной гипокоагуляции ($MHO \geq 4,0$) при подборе дозы варфарина

Дискриминантный анализ		
Показатель	F-критерий	p
Генотип A/A <i>VKORC₁</i>	14,08	0,0002
Терапия амиодароном в течение 30 дней до назначения варфарина (независимо от дозы и способа введения)	7,1	0,008
Отсутствие одновременного носительства аллельных вариантов GG гена <i>VKORC₁</i> и аллельного варианта 1*1 гена <i>CYP2C9</i>	6,7	0,01
Генотипы *2/*2, *2/*3 или *3/*3 гена <i>CYP2C9</i>	4,6	0,032

С целью поиска предикторов развития чрезмерной гипокоагуляции при подборе дозы варфарина был проведен пошаговый дискриминантный анализ, по результатам которого было установлено, что генетическими предикторами являются генотип A/A *VKORC₁*, генотипы *CYP2C9* *2/*2 или *2/*3 или *3/*3 и отсутствие одновременного носительства вариантов GG *VKORC₁* и 1*1 *CYP2C9*.

Клиническим предиктором оказалась терапия амиодароном в течение 30 дней до назначения варфарина (независимо от дозы и способа введения) – табл. 13.

Таким образом, проведенный пошаговый дискриминантный анализ подтвердил, что быстрые темпы насыщения связаны с носительством генетических полиморфизмов, определяющих значимое нарушение чувствительности к варфарину, а также с сопутствующей терапией амиодароном. Выявление значений $MHO \geq 2,0$ на 3 и 5 сутки от начала терапии варфарином позволяет клинически предположить генетически обусловленные серьезные нарушения метаболизма варфарина, что подтверждает высокую значимость забора крови в это время.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ВЫВОДЫ

- Достижение первого значения $MHO \geq 2,0$ на 3-5 сутки достоверно связано с развитием чрезмерной гипокоагуляции ($MHO > 4,0$) при подборе дозы варфарина.
- Быстрые темпы достижения антикоагулянтного эффекта в подавляющем большинстве случаев связаны с генотипом $CYP2C9^{*2/*2}$, $^{*3/*3}$ или $2/*3$ или генотипом A/A гена $VKORC_1$ или одновременным носительством двух гетерозиготных генотипов $CYP2C9$ и $VKORC_1$.
- Определение MHO на 3–5 сутки от начала терапии имеет высокую практическую значимость, так как позволяет, получив значения $MHO \geq 2$ уменьшить принимаемую дозу варфарина и тем самым избежать развития в дальнейшем чрезмерной гипокоагуляции.

7. Практические аспекты терапии варфарином, основанные на результатах исследования «Варфаген»

На основании полученных результатов исследования Варфаген, свидетельствующих о прямой зависимости развития чрезмерной гипокоагуляции от темпов насыщения варфарином нами были внесены изменения в существующий алгоритм подбора дозы варфарина. Изменения коснулись коррекции дозы варфарина на 3–4 и 5–6 сутки. Принципиальным изменением является уменьшение суточной дозы варфарина в случае получения значений $MHO \geq 2,0$ на 3 сутки, а также отсутствие увеличения дозы при значениях $MHO 1,5–2,0$ на 3–4 сутки лечения (см. табл. 14).

Таблица 14

Алгоритм подбора дозы варфарина (таблетки по 2,5 мг)*

Первые 2–3 дня – 2 таблетки (5 мг) однократно вечером после ужина		
3–4 день	МНО<1,5	Увеличить суточную дозу на 1/4 табл. Контроль МНО через 2 дня.
	МНО 1,5–2,0	Оставить суточную дозу без изменений. Контроль МНО через 2 дня.
	МНО≥2,0	Пропустить 1–2 приёма варфарина. Возобновление терапии при МНО 2,0–2,5 в дозе 1 табл. Контроль МНО через 1–2 дня.
	МНО>3,0	Пропустить 2 приёма варфарина. Возобновление терапии при МНО 2,0–2,5 в дозе 1/2 табл. Контроль МНО через 1–2 дня.
5–6 день	МНО<1,5	Увеличить суточную дозу на 1/2 табл. Контроль МНО через 2 дня.
	МНО 1,5–2,0	Увеличить суточную дозу на 1/4 табл. Контроль МНО через 2 дня.
	МНО 2,0–2,5	Оставить суточную дозу без изменений. Контроль МНО через 2 дня.
	МНО 2,5–3,0	Увеличить суточную дозу на 1/4 таблетки. Контроль МНО через 2 дня.
	МНО>3,0	Пропустить 1–2 приёма варфарина. Возобновление терапии при МНО 2,0–2,5 в дозе 1 табл. Контроль МНО через 1–2 дня.
7–8 день	МНО<1,5	Увеличить суточную дозу на 1/2 таблетки. Контроль МНО через 2 дня.
	МНО 1,5–2,0	Увеличить суточную дозу на 1/4 таблетки. Контроль МНО через 2 дня.
	МНО 2,0–3,0	Оставить суточную дозу без изменений. Контроль МНО через 2 дня.
	МНО>3,0	Пропустить 1–2 приёма варфарина. Возобновление терапии при МНО 2,0–2,5. Уменьшить дозу на 1/2 таблетки. Контроль МНО через 1–2 дня.
Дальнейший МНО 1 раз в 2–3 дня с использованием алгоритма 7–8-го дня.		

Примечание: доза варфарина считается подобранной при получении двух близких последовательных значений МНО в целевом диапазоне.

Дополнения к алгоритму подбора дозы варфарина

Меньшие стартовые дозы (2,5–3,75 мг) рекомендуются больным:

- старше 75 лет
- имеющим низкую массу
- хроническую сердечную недостаточность
- почечную недостаточность
- в раннем послеоперационном периоде
- при исходном нарушении функции печени
- при совместном приеме амиодарона. Необходимо учитывать любой способ введения препарата (как пероральный, так и внутривенный). Значимым следует считать не только постоянный прием амиодарона, но и назначение хотя бы одной дозы препарата ≥ 600 мг в течение последнего месяца, а также прекращение постоянной терапии амиодароном менее, чем за 30 дней до назначения варфарина.

Литература

1. Диагностика и лечение фибрилляции предсердий. Рекомендации РКО, ВНОА и АССХ, Российский Кардиологический журнал, 2014 № 4, приложение 3
2. Camm A. J., Lip G. Y. H., Raffaele De Caterina ESC GUIDELINES 2012 focused update of the ESC Guidelines for the management of atrial fibrillation An update of the 2010 ESC Guidelines for the management of atrial fibrillation Developed with the special contribution of the European Heart Rhythm Association fibrillation. European Heart Journal 2012; 33: 2719–2747.
3. Guyatt GH1, Akl EA, Crowther M et al American College of Chest Physicians Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis Panel Executive summary: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. Chest. 2012 Feb; 141 (2 Suppl):7S-47S.
4. John W., Eikelboom, M. D., Stuart J. Connolly, M. D., Martina Brueckmann, M. D., et al Dabigatran versus Warfarin in Patients with Mechanical Heart Valves N Engl J Med 2013; 369:1206–1214
5. Scordo M. G., Pengo V., Spina E. et al “Influence of CYP2C9 and CYP2C19 genetic polymorphisms on warfarin maintenance dose and metabolic clearance” Clin Pharmacol Ther 2002; 72:702–710.
6. Joffe H. V., Xu R., Johnson F. B. et al “Warfarin dosing and cytochrome P450 2C9 polymorphisms.” Thromb Haemost 2004; 91:1123–1128.
7. Сироткина О. В., Улитина А. С., Тараскина А. Е. с соавт. “Аллельные варианты CYP2C9*2 и CYP2C9*3 гена цитохрома CYP2C9 в популяции Санкт-Петербурга и их клиническое значение при антикоагулянтной терапии варфарином. “ Российский кардиологический журнал 2004; №6: 24–31.
8. Михеева Ю. А., Кропачева Е. С., Игнатьев И. В. с соавт. “Полиморфизм гена цитохрома P4502C9 (CYP2C9) и безопасность терапии варфарином” Кардиология 2008, №3, 77–83.
9. Сычев Д. А., Михеева Ю. А., Кропачева Е. С., Игнатьев И. В., Булытова Ю. М., Раменская Г. В., Добровольский А. Б., Панченко Е. П., Кукес В. Г. Влияние полиморфизма гена CYP2C9 на фармакокинетику и фармакодинамику варфарина у больных с постоянной формой фибрилляции предсердий. // Клиническая медицина. – 2007. – №1. – с. 57–60
10. Pchelina SN, Sirotkina OV, Taraskina AE, Vavilova TV, Shwarzman AL, Schwartz EI. The frequency of cytochrome P450 2C9 genetic variants in the Russian

- population and their associations with individual sensitivity to warfarin therapy. *Thromb Res.* 2005; 115(3): 199–203
11. Sanderson S, Emery J, Higgins J. CYP2C9 gene variants, drug dose, and bleeding risk in warfarin-treated patients: a HuGENet systematic review and meta-analysis. *Genet Med.* 2005; 7:97–104.
 12. Epstein RS1, Moyer TP, Aubert RE, O Kane DJ, Xia F, Verbrugge RR, Gage BF, Teagarden JR. Warfarin genotyping reduces hospitalization rates results from the MM-WES (Medco-Mayo Warfarin Effectiveness study). *J Am Coll Cardiol.* 2010; 55(25): 2804–12. doi: 10.1016/j.jacc.2010.03.009. Epub 2010 Apr 8.
 13. Lee CR, Goldstein JA, Pieper JA. Cytochrome P450 2C9 polymorphisms: a comprehensive review of the in-vitro and human data. *Pharmacogenetics.* 2002; 2:251–63.
 14. Rieder M. J., Reiner A. P., Gage B. F. et al “Effect of VKORC1 haplotypes on transcriptional regulation and warfarin dose” *N Engl J Med.* 2005; 352(22): 2285–93.,
 15. Sconce EA1, Khan TI, Wynne HA et al The impact of CYP2C9 and VKORC1 genetic polymorphism and patient characteristics upon warfarin dose requirements: proposal for a new dosing regimen. *Blood.* 2005; 106(7): 2329–33
 16. Е. П. Панченко, Ю. А. Михеева, Д. А. Сычев с соавт. “Новый подход к повышению безопасности лечения варфарином (результаты фармакогенетического исследования)” *Кардиологический Вестник* 2008, № 2 Том III (XV), 38–44.,
 17. Д. А. Сычев, И В. Игнатьев, В. Г. Кулес, И. Э. Коман, Д. В. Байдак, В. Л. Загорская // *Медицинская генетика.* – 2006. – № 5. – С. 9–11.
 18. Загорская В. Л., Игнатьев И. В., Кропачева Е. С., Михеева Ю. М., Емельянов Н. В., Сычев Д. А., Панченко Е. П., Кулес В. Г. Полиморфный маркер G3673A гена VKORC₁ – новый генетический фактор, ассоциированный с развитием геморрагических осложнений при применении непрямых антикоагулянтов.// *Клиническая фармакология и фармакоэкономика.*– 2008.– № 1.– 29–33
 19. Gage BF, Eby C, Johnson JA, et al. Use of pharmacogenetic and clinical factors to predict the therapeutic dose of warfarin. *Clin Pharmacol Ther.* 2008; 84(3): 326–31.
 20. Cooper GM, Johnson JA, Langae TY, Feng H, Stanaway IB, Schwarz UI, et al. A genome-wide scan for common genetic variants with a large influence on warfarin maintenance dose. *Blood.* 2008 August 15, 2008; 112(4): 1022–7.

21. Takeuchi F, Mc Ginnis R, Bourgeois S, Barnes C, Eriksson N, Soranzo N, et al. A genome-wide association study confirms VKORC₁, CYP2C9, and CYP4F2 as principal genetic determinants of warfarin dose. *PLoS Genet.* 2009; 5(3): e1000433.
22. Caldwell M. D., Tarif Awad, Johnson J. A. et al CYP4F2 genetic variant alters required warfarin dose *Blood* 2008 111: 4106–4112.
23. McDonald MG, Rieder M. J., Mariko Nakano, Clara K. Hsia C. K, and Rettie A. E. CYP4F2 is a vitamin K1 oxidase: An explanation for altered warfarin dose in carriers of the V433M variant. *Mol Pharmacol.* 2009 Jun; 75(6): 1337–46
24. Zhang JE, et al. Effects of CYP4F2 genetic polymorphisms and haplotypes on clinical outcomes in patients initiated on warfarin therapy. *Pharmacogenet Genomics.* 2009 ; 19(10): 781–9
25. “The effect of low-dose warfarin on the risk of stroke in patients with nonrheumatic atrial fibrillation” The Boston Area Anticoagulation Trial for Atrial Fibrillation Investigators *NEJM* 1990 Nov 29: Vol 323: 1505–1511
26. Palareti G, Leali N, Coccheri S, Poggi M, et al. “Hemorrhagic complications of oral anticoagulant therapy: results of a prospective multicenter study ISCOAT (Italian Study on Complications of Oral Anticoagulant Therapy)” *G Ital Cardiol.* 1997; 27(3): 231–43.
27. Wallvik J, Sja "lander A, Johansson L, Bjuhr O, Jansson JH. Bleeding complications during treatment in primary healthcare centers compared with anticoagulation clinics. *Scand J Primary Health Care* 2007; 25: 123–128.
28. Hylek EM, Evans-Molina C, Shea C, Henault LE, Regan S. Major hemorrhage and tolerability of warfarin in the first year of therapy among elderly patients with atrial fibrillation. *Circulation.* 2007; 115: 2689–2696.
29. D. George Wyse, MD, PhD Bleeding While Starting Anticoagulation for Thromboembolism Prophylaxis in Elderly Patients With Atrial Fibrillation *Circulation.* 2007; 115: 2684–2686
30. O'Reilly R. A. “Interaction of spironolactone and racemic warfarin in man” *Clin Pharmacol Ther* 1980; 27: 198–201
31. Oates A., Jackson P. R., Austin C. A. et al “A new regimen for starting warfarin therapy in outpatients” *Br J Clin Pharmacol* 1998; 46: 157–161.
32. Petitti D. B., Storm B. L., Melmon K. L. “Prothrombin time ratio and other factors associated with bleeding in patients treated with warfarin” *J Clin Epidemiol* 1989; 42: 759–764.
33. Gorter JW “Major bleeding during anticoagulation after cerebral ischemia: patterns and risk factors. *Stroke Prevention in Reversible Ischemia Trial*

- (SPIRIT). European Atrial Fibrillation Trial (EAFT) study groups" *Neurology* 1999; 53(6): 1319–27
34. Fihn SD, McDommel M, Matin D et al "Risk factors for complications of chronic anticoagulation. A multicenter study. Warfarin Optimized Outpatient Follow-up Study Groop" *Ann Intern Med* 1993; 118(7); 511–20
 35. Mhairi Copland, BSc, MBChB, MRCP; Isobel D. Walker, MD, FRCP, FRCPath; R. Campbell Tait, BSc, FRCP, MRCPPath "Oral Anticoagulation and Hemorrhagic Complications in an Elderly Population With Atrial Fibrillation" *Arch Inter Med* Vol. 161 N17, September 24, 2001
 36. Van dar Meer FJ, Rosendaal FR, van den Broucke JP et al "Bleeding complications in oral anticoagulant therapy: an analysis of risk factors" *Arch Inter Med* 1993; 153: 1557–1562

Часть II. Фармакогенетический метод оценки чувствительности к клопидогрелу

1. Введение

Антиагреганты входят в число лекарственных средств, жизненно необходимых больным с различными проявлениями атеротромбоза, включая ОКС с подъемом и без подъема сегмента ST на ЭКГ, стабильную стенокардию, ишемическую болезнь мозга и периферический атеросклероз. На протяжении более чем трех десятков лет основой антитромбоцитарной терапии продолжает оставаться АСК, эффективность которой подтверждена многочисленными рандомизированными исследованиями, включившими в общей сложности свыше 100.000 человек [1]. К сожалению, назначение лишь одной АСК, особенно у больных высокого риска, не может обеспечить достаточного антитромбоцитарного эффекта, что вероятно обусловлено воздействием препарата только на один путь активации кровяных пластинок (связанный с ингибированием циклооксигеназы и образованием тромбоксана A_2).

Принципиально иным механизмом действия обладают селективные блокаторы пуриновых (P_2Y_{12}) рецепторов, ингибирующие АДФ-вызванную агрегацию тромбоцитов (АТ) [2]. Среди препаратов этой группы наибольшую известность, начиная с середины 90-х годов прошлого столетия, приобрел клопидогрел. Существующими рекомендациями допускается возможность использования клопидогрела в качестве единственного антиагреганта (как альтернативы АСК при его непереносимости) – у больных с цереброваскулярной патологией, периферическим атеросклерозом, а также у больных стабильной ишемической болезнью сердца при отсутствии недавнего ЧКВ. Однако наиболее востребованным на сегодняшний день представляется назначение клопидогрела в комбинации с АСК, что позволяет добиться лучшего подавления функции тромбоцитов по сравнению с использованием каждого антиагреганта в отдельности. По современным представлениям, двойная антиагрегантная терапия, включающая АСК и один из блокаторов рецепторов тромбоцитов к АДФ (как правило, клопидогрел), является обязательной при стентировании коронарных артерий, а также при консервативном и инвазивном лечении (ЧКВ) больных ОКС с подъемом и без подъема сегмента ST на ЭКГ [3–9].

Необходимо отметить, что эффективность антитромбоцитарной терапии, в т.ч. двойной, имеет определенные ограничения. Так, около 9 % больных ОКС переносят повторные обострения ИБС в течение первого года лечения [10],

а среди больных, подвергнутых коронарному стентированию, частота такого жизненно опасного осложнения, как острый или подострый тромбоз стента, может достигать 1–3 % [8–9]. Полагают, что развитие подобных осложнений может быть обусловлено не только тяжестью основного заболевания (атеротромбоз), но и недостаточным блокированием реактивности тромбоцитов несмотря на проводимое лечение.

Изучение антитромбоцитарного действия АСК/клопидогрела с помощью различных лабораторных тестов обнаружило индивидуальную вариабельность в реакции на эти лекарства. Также было показано, что недостаточное подавление функции тромбоцитов на фоне лечения (встречающееся примерно в 25–30 % случаев) может ассоциироваться с увеличением риска сосудистых осложнений [2, 11, 12]. Данный феномен получил название «резистентности» к пероральным антиагрегантным препаратам.

Причины «резистентности» разнообразны, и многие из них не связаны с каким бы то ни было нарушением действия лекарства. Прежде всего, следует отметить простое несоблюдение предписанной схемы лечения. Среди других возможных причин, важными считают усиленное «потребление» тромбоцитов и их исходную высокую реактивность, наблюдаемые у больных сахарным диабетом и ОКС, гиперкоагуляцию и повышение содержания в кровотоке агонистов тромбоцитов, не подвластных действию АСК и клопидогрела, среди которых наиболее мощным является тромбин.

Проблема резистентности именно к АСК не имеет большого клинического значения. Во многом это связано с особенностями его фармакокинетики. Как известно, препарат быстро всасывается из желудочно-кишечного тракта и полностью блокирует циклооксигеназу в тромбоцитах уже в дозе ≤ 100 мг. В соответствии с рекомендациями экспертов рабочей группы по тромбозам Европейского кардиологического общества (ЕКО), 2013 г. [12], оценка чувствительности к АСК не рекомендуется. Поддерживающая доза препарата не должна превышать 100 мг в сутки. Использование более высоких доз не является более эффективным в отношении профилактики тромботических осложнений, но увеличивает риск развития кровотечений.

Действие клопидогрела в отличие от АСК является менее прогнозируемым, поскольку препарат не является активным веществом и требует для осуществления специфического антитромбоцитарного эффекта сложного преобразования в системе CYP 450. После абсорбции в кишечнике (процесс, контролируемый системой гликопротеина Р), около 85 % принятого препарата инактивируется эстеразами плазмы и выводится кишечником. Оставша-

яся часть (~15 %) подвергается двухэтапной биотрансформации в печени с участием ферментов семейства CYP 450 (см. рисунок 11). Образовавшийся коротко живущий активный метаболит осуществляет воздействие на тромбоциты, необратимо связываясь с P_2Y_{12} рецепторами. Логично, что нарушение в силу тех или иных причин всасывания, либо печеночной трансформации может лежать в основе нечувствительности к клопидогрелу.

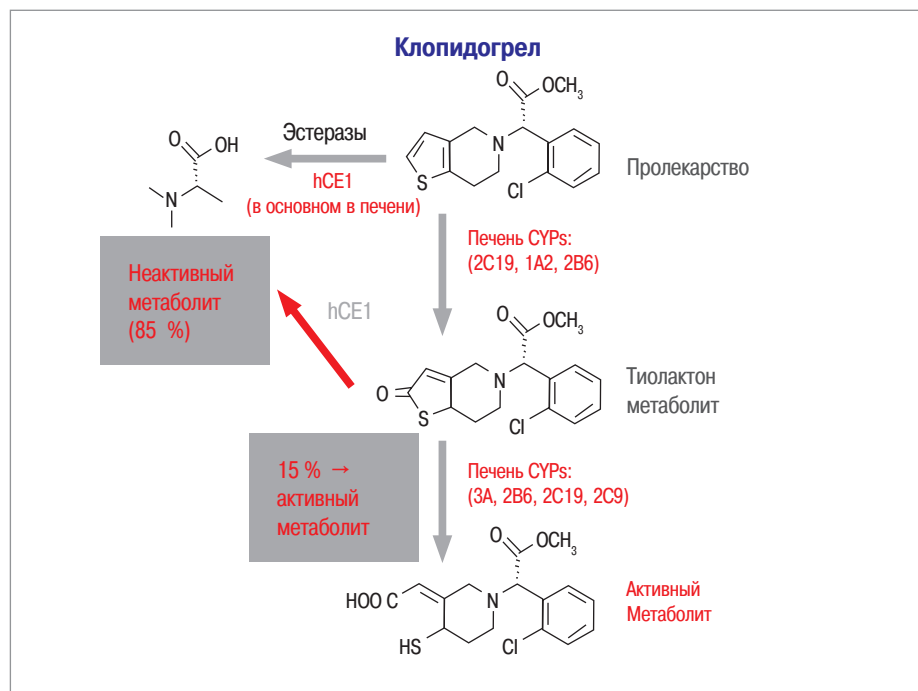


Рисунок 11. Схема биотрансформации клопидогрела.

В настоящее время стало очевидным, что системам транспортеров и биотрансформации большинства лекарственных средств (в том числе клопидогрела) присущ генетический полиморфизм, характеризующийся наличием изоформ ферментов с высокой и низкой активностью. Соответственно, имеются генетические особенности, влияющие на фармакологический ответ у конкретного пациента. Установление этих фармакогенетических особенностей позволяет врачу индивидуально подходить к выбору как самих лекарственных препаратов, так и их доз у каждого конкретного пациента, обеспечивая

тем самым максимально эффективное и безопасное лечение [13]. Рутинное фармакогенетическое тестирование рекомендуется перед назначением ряда иммуносупрессантов, противовирусных и противоопухолевых препаратов. В кардиологической практике данный метод востребован при подборе дозы варфарина. Целесообразность фармакогенетических тестов для персонализации антиагрегантной терапии до недавнего времени определена не была.

Настоящее пособие, предназначенное для практических врачей, ставит своей целью описание относительно нового метода оценки чувствительности к клопидогрелу с помощью генетического тестирования. Приведены результаты основных крупных исследований, а также собственные результаты, определившие клиническое значение генетических нарушений обмена клопидогрела.

Даны рекомендации по отбору пациентов для выполнения фармакогенетического тестирования чувствительности к клопидогрелу, интерпретации результатов теста и клинической тактике, применяемой в отношении больных, генетически «резистентных» к клопидогрелу.

2. Генетические факторы, определяющие исходы терапии клопидогрелом

Одной из первых работ, посвященных изучению влияния генетических полиморфизмов CYP 450 на эффективность клопидогрела, было небольшое исследование Hulot с соавт. [14], опубликованное в 2006 году. У 28 здоровых добровольцев было проведено генотипирование по наиболее часто встречающимся аллельным вариантам генов, кодирующих ферменты CYP2C19, CYP3A5, CYP2B6 и CYP1A2. Из всех изученных вариантов генов CYP ассоциация с недостаточным ингибированием функции тромбоцитов в ответ на прием клопидогрела была установлена только для полиморфизма CYP2C19*2, кодирующего образование фермента со сниженной функцией. Год спустя эти данные были подтверждены Fontana с соавторами при генотипировании и оценке функции тромбоцитов у 94 здоровых людей, получавших клопидогрел. Практически одновременно Angiolillo с соавт [15] показали, что вариабельность антитромбоцитарного действия клопидогрела может быть также связана с носительством полиморфизма другого фермента – CYP3A4 (IVS10+12G>A). К сожалению, все эти исследования носили скорее экспериментальный характер и могли иметь большого практического значения.

Интерес к обсуждаемой проблеме значительно усилился после опубликования в течение четырех последних лет результатов нескольких крупных исследований, в которых была продемонстрирована связь генетических нарушений фармакокинетики клопидогрела с развитием неблагоприятных коронарных исходов у больных, получавших этот препарат.

Так, Мега с соавт. [16] исследовали влияние полиморфизмов шести генов CYP 450 (CYP2C19, CYP2C9, CYP2B6, CYP3A4, CYP3A5 и CYP1A2) на активность клопидогрела у 162 здоровых людей. Носители, по крайней мере, одного аллеля, уменьшающего функцию CYP2C19 (таких было 34 % в обследованной группе), характеризовались меньшим ингибированием АТ в ответ на препарат и достоверно более низкой концентрацией в плазме его активного метаболита по сравнению с носителями нормального генотипа – CYP2C19*1. Тенденция к снижению реакции на клопидогрел была обнаружена также для генетических вариантов с низкой активностью фермента CYP2B6.

В этой же работе была изучена ассоциация между генетическими вариантами CYP2C19 и развитием сердечно-сосудистых осложнений в отдельной когорте из 1477 больных, получавших стандартную дозировку клопидогрела в исследовании TRITON-TIMI 38 (исследование, в котором сравнивалась эффективность клопидогрела и тиаенопиридина 3-го поколения – празугрела при инвазивном лечении ОКС). Частота выявления аллелей низкой активности CYP2C19 (в первую очередь – CYP2C19*2) составила 27,1 %. Носительство аллелей, соответствующих ослабленному метаболизму клопидогрела, ассоциировалось с достоверным увеличением риска развития основных сердечно-сосудистых событий (ОР 1.53, 95 % ДИ 1,07–2,19, $p=0.01$), включая – тромбозы стента (ОР 3.09, 95 % ДИ 1,19–8,00, $p=0.02$). Следует подчеркнуть, что у пациентов, получивших празугрел, подобной зависимости обнаружено не было.

Значимость полиморфизма, способствующего снижению функции CYP2C19, в отношении развития осложнений после процедур коронарного стентирования была установлена и в двух других крупных исследованиях: EXCELSIOR и RE-CLOSE.

Результаты фармакогенетической части исследования EXCELSIOR, в которое вошло 802 больных ИБС, подвергнутых плановым процедурам коронарного стентирования, были опубликованы в 2008 г [17]. Ранее в этом исследовании была обнаружена связь высокой остаточной реактивности тромбоцитов (ОРТ) на терапии клопидогрелом с развитием неблагоприятных клинических исходов в течение 30 дней после стентирования.

При анализе исходов за год наблюдения было продемонстрировано трехкратное увеличение риска развития смерти и ИМ, ассоциированное с высокой АТ. Негативное влияние высокой ОРТ на прогноз было больше выражено у больных, которым имплантировались стенты с лекарственным покрытием. Частота развития осложнений у стентированных пациентов составила 0,9 % у больных с низкой и 7,1 % у больных с высокой остаточной АТ (ОР 7,8, 95 % ДИ 1,5–40,3; $p=0.004$).

Как и следовало ожидать, наличие артериальной гипертензии, избыточной массы тела и сахарного диабета были связаны с повышением ОРТ. Помимо клинических показателей уровень ОРТ, у пациентов, принимавших клопидогрел, напрямую зависел от генотипа CYP2C19. Среди обследованных больных 245 (30,7 %) больных оказались носителями, по крайней мере, одного мутантного аллеля *2. При этом высокая ОРТ наблюдалась достоверно чаще у носителей аллеля низкой активности в сравнении с гомозиготами дикого типа как на момент проведения ЧКВ (62,4 % против 43,6 %), так и непосредственно перед выпиской (41,3 % против 22,5 %).

Высокая ОРТ, ассоциированная с полиморфизмом CYP2C19*, оказалась предиктором развития тромбозов стентов с лекарственным покрытием в исследовании RE-CLOSE [18]. Частота носительства аллелей *2 была достоверно выше у больных с развившимися в течение 6 месяцев после ЧКВ тромбозами стентов, а также у больных, достигших комбинированной конечной точки, объединившей тромбоз стента и сердечно-сосудистую смерть, по сравнению с пережившими этот период без осложнений: 54,1 % и 51,7 % против 31,2 % соответственно.

Носители полиморфных аллелей имели более высокий уровень АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов. Многофакторный регрессионный анализ, выполненный с учетом влияния факторов, заведомо значимых в отношении исходов ЧКВ, показал, что возникновение осложнений было связано как с наличием полиморфизма CYP2C19*2, так и с высокой АТ на терапии клопидогрелом. Относительный риск развития тромбоза стента для этих показателей составил соответственно 3.43 (95 % ДИ 1.01–12.78, $p=0.047$) и 3.08 (95 % ДИ 1.23–7.72, $p=0.016$, а ОР комбинированной конечной точки (тромбоз стента и сердечная смерть) – соответственно 2.7 (95 % ДИ 1.0–8.42, $p=0.049$) и 2.90 (95 % ДИ 1.08–12.98, $p=0.019$). Пациенты с одновременным носительством аллеля CYP2C19*2 и неподавленной АТ имели самый высокий риск развития осложнений: как тромбоза стента (ОР=5.79, 95 % ДИ 1.04–39.01, $p=0.033$), так тромбоза стента и сердечной смерти (ОР=11.45, 95 % ДИ 1.84–71.27, $p=0.009$).

Ассоциация между носительством полиморфизма CYP2C19*2 и развитием коронарных осложнений была установлена и в исследовании Sibbing с соавт [19], включившем 2485 больных, низкого и среднего риска, участвовавших в исследованиях ISAR. Пациенты были подвергнуты коронарному стентированию после предварительного приема 600 мг клопидогрела. Как и в предшествующих работах, около 30 % больных оказались гетеро- или гомозиготными носителями аллеля CYP2C19*2. Первичной конечной точкой являлось возникновение в пределах 30 дней после ЧКВ тромбоза стента, подтвержденного данными ангиографии или патоморфологического исследования. Частота развития указанного осложнения оказалась достоверно выше у носителей аллелей *2/*2* и 1/*2* по сравнению с гомозиготами дикого типа: 1,5 % против 0,4 %. В многофакторной модели Кокса относительный риск развития тромбоза стента, связанный с полиморфизмом CYP2C19*2, составил 3.86 (95 % ДИ 1.47–10.14, $p=0.006$). При этом значимость носительства CYP2C19*2 не зависела от клинических и ангиографических показателей, способных оказать влияние на прогноз после процедуры стентирования.

В отличие от описанных выше исследований, работа Collet с соавт. [20] была посвящена изучению фармакогенетики клопидогрела у молодых пациентов, впервые перенесших инфаркт миокарда (ИМ). Начиная с апреля 1996г, в многоцентровый регистр во Франции было последовательно включено 378 пациентов моложе 45 лет, госпитализированных с первым ИМ и наблюдавшихся затем до апреля 2008 г. Среди них была отобрана когорта из 259 больных, получавших в этот период времени клопидогрел, в течение, по крайней мере, одного месяца. У большинства (216 больных) препарат был назначен исходно, по поводу индексного события (как правило, после выполнения первичного ЧКВ), а у остальных 43 пациентов терапия была начата позже в связи повторным развитием ОКС и/или выполнением эндоваскулярных вмешательств. Первичная конечная точка определялась как сумма событий (смерть, ИМ и неотложная реваскуляризация коронарных артерий), произошедших в период приема клопидогрела.

Распределение полиморфизмов CYP2C19 среди обследованного контингента больных было типичным для европейской популяции. Большинство – 186 (72 %) пациентов оказались гомозиготами дикого типа. Гетеро- и гомозиготными носителями аллелей *2 были соответственно 64 (25 %) и 9 (3 %) человек. Носительство других аллелей низкой активности CYP2C19 встречалось значительно реже: *3 – у двух больных и *4 – у трех больных. Аллельных вариантов *5 и *6 в найдено не было.

Частота первичной конечной точки была выше среди носителей хотя бы одного аллеля *2 по сравнению с носителями дикого генотипа: 10.9 против 2.89 событий на 100 пациентов, леченых клопидогрелом в течение 1 года. Носительство полиморфизма CYP2C19*2 ассоциировалось с увеличением риска развития как комбинированной конечной точки (ОР 5,38, 95% ДИ 2.32–12.47), так и ее компонентов: ИМ (ОР 5,57, 95 % ДИ 1.94–16.01), экстренной коронарной реваскуляризации (ОР 5,38, 95 % ДИ 2.32–12.47) и подтвержденного тромбоза стента (ОР 6,04, 95 % ДИ 1.75–20.80). Следует особо подчеркнуть, что при многофакторном анализе, в который было включено большое число клинических и лабораторных показателей, характеризовавших, в том числе и состояние систем гемостаза и липидного обмена, носительство генетического варианта CYP2C19*2 оказалось единственным независимым предиктором ишемических событий.

В начале 2009 года были опубликованы результаты еще одного крупного регистра больных ИМ. Из общенационального французского регистра FAST-MI [21] было отобрано 2208 больных с острым ИМ, получавших терапию клопидогрелом. У этих больных были исследованы полиморфизмы генов, ответственных за абсорбцию клопидогрела в желудочно-кишечном тракте (ABCB1), его трансформацию в печени (CYP3A5 и CYP2C19) и способность подавлять агрегацию тромбоцитов (рецепторы к АДФ P2Y₁₂ и фибриногену ITGB3). Частота комбинированной конечной точки (смерть от любых причин, нефатальные ИМ и инсульт) на протяжении 1 года наблюдения составила 13 %. Из всех изученных аллельных вариантов, ассоциированных с развитием конечной точки, оказалось носительство полиморфизмов генов, кодирующих гликопротеин P (ген ABCB1 C3435T) и фермент CYP2C19.

Больные, являвшиеся гомозиготными носителями гена ABCB1 с заменой ТТ в нуклеотиде 3435, имели достоверно более высокую частоту развития неблагоприятных исходов в сравнении с носителями дикого генотипа СС: 15,5% против 10,7 %, ОР = 1,72, 95 % ДИ 1.2–2.47. Частота осложнений была также выше у носителей любых двух аллелей низкой активности CYP2C19 (*2, *3, *4, *5) по сравнению с гомозиготными носителями аллеля CYP2C19*1, обеспечивающего достаточный метаболизм,: 21,5 % против 13,3 %, ОР=1,98, 95 % ДИ 1.1–3.58).

Негативное влияние носительства аллельных вариантов CYP2C19 на результаты лечения клопидогрелом нашло подтверждение и в различных метаанализах [22, 23]. По данным одного из таких метаанализов [23], объединивших результаты наблюдения за почти 12.000 больных ИБС, риск развития основных

неблагоприятных сосудистых событий на терапии клопидогрелом был достоверно выше у носителей снижающих функцию аллелей CYP2C19*2 (ОР тромбоза стента – 3,35; ОР смерти – 1,79) – рисунок 12.



Рисунок 12. Влияние носительства аллелей низкой активности CYP2C19*2 на исходы лечения клопидогрелом (метаанализ Hulot et al. 2010 г).

Наряду с аллельными вариантами низкой активности CYP2C19, описан и вариант *17, кодирующий образование фермента с усиленной функцией. Носительство этого аллельного варианта (встречающееся примерно у 40 % лиц в европейской популяции) может способствовать ускорению метаболизма клопидогрела и, соответственно, более сильному подавлению функции тромбоцитов в ответ на принятую дозу. По данным Sibbing с соавт [24], носительство аллеля CYP2C19*17 ассоциировалось почти с двукратным увеличением риска любых кровотечений в группе больных, подвергнутых ЧКВ после предварительного приема 600 мг клопидогрела. Уменьшения частоты ишемических событий, в т.ч. тромбозов стента, у носителей аллеля *17 не было.

Обсуждавшиеся выше фармакогенетические исследования были выполнены главным образом в Западной Европе и Северной Америке. Очевидно, что экстраполировать результаты этих исследований на российскую популяцию следует с определенной осторожностью, поскольку для каждой этнической группы существуют генетические особенности, касающиеся, в том числе, обмена клопидогрела. Так, например, носительство аллельных вариантов генов, кодирующих образование CYP2C19* с ослабленной функцией, встречается примерно у 25–30 % лиц европеоидной и негроидной рас, в то время, как среди монголоидов такие полиморфные маркеры обнаруживается более, чем в 50 % случаев [25, 26]. В связи с изложенным мы сочли целесообразным представить собственные данные [27–29] о влиянии фармакогенетических показателей на исходы лечения клопидогрелом у больных, проживающих в России.

Нами была изучена частота носительства полиморфных аллелей генов, контролирующих всасывание (ABCB1) и трансформацию клопидогрела (CYP2C19*) в крупной когорте больных ИБС (n=503) проживающих в центральном регионе Российской Федерации «Дикий» генотип ABCB1 (3435C/C) обнаружен у 27,4 %, полиморфный генотип у 72,6% пациентов (гетерозиготы – 54,5 %, гомозиготы – 18,1 %). Частота носительства полиморфизмов гена CYP2C19* составляла: *1/*1 (достаточный метаболизм) – 38,7 %, *17/*1 и *17/*17 (усиленный метаболизм) – 35,2 %, *1/*2 (промежуточный метаболизм) – 16,5 %, *2/*2 (ослабленный метаболизм) – 2,4 %. Таким образом, распределение аллельных вариантов ABCB1 и CYP2C19* в целом соответствовало показателям, характерным для лиц европеоидной расы. Аналогичные данные о распространенности аллельных вариантов CYP2C19* в российской популяции приводят и другие авторы [13].

В обследованной когорте отобрано 399 человек, которым было запланировано длительное лечение клопидогрелом. В отличие от большинства предшествующих исследований, включались только пациенты со стабильными проявлениями ИБС, у которых клопидогрел мог назначаться в качестве единственного антиагреганта (как альтернатива АСК), либо в составе двойной антитромбоцитарной терапии при выполнении плановых процедур ЧКВ. Суточная доза клопидогрела составляла 75 мг. По усмотрению лечащего врача допускалось ее увеличение до 150 мг в течение первых двух месяцев после ЧКВ. Анализировалась взаимосвязь фармакогенетических показателей с исходами на протяжении 12–18 месяцев терапии. Учитывались тромботические осложнения – сосудистая смерть, ОКС, ишемический инсульт, транзиторная ишемическая атака (ИИ/ТИА), случаи реваскуляризации пораженного сосудистого бассейна, а также любые кровотечения.

Частота встречаемости аллельных вариантов ABCB1 и CYP2C19* у больных, получавших клопидогрел (изолированно или вместе с АСК), в целом не отличалось от общего пула больных. Носительство вариантных аллелей ABCB1 (СТ или ТТ) не было сопряжено с неблагоприятными исходами.

В отличие от гена ABCB1, аллельные варианты CYP2C19* оказывали существенное влияние на исходы лечения клопидогрелом. По данным многофакторного анализа, выполненного с поправкой на пол, возраст и клинические факторы, гетерозиготное носительство аллелей ослабленного метаболизма CYP2C19 (*1/*2) повышало суммарный риск развития тромботических осложнений и потребность в реваскуляризации в 2,4 раза ($p=0,01$), а гомозиготное (*2/*2) – в 5,4 раза ($p=0,003$).

Наиболее неблагоприятной была ситуация в группе больных, получавших клопидогрел в качестве единственного антиагреганта (рис. 13А). У этих пациентов носительство хотя бы одного аллеля низкой активности CYP2C19*2 ассоциировалось со значительным увеличением частоты всех неблагоприятных сосудистых исходов (50,0 % против 14,1 %, $p=0,003$), в том числе острых тромботических осложнений (30,0 % против 7,9 %, $p=0,02$). Статистически значимого влияния носительства аллеля *17 на прогноз не было.

У больных, получавших двухкомпонентную антиагрегантную терапию, также была обнаружена тенденция к увеличению частоты сосудистых осложнений при носительстве аллелей CYP2C19*2 (рис. 13Б). Однако различие в суммарной частоте исходов между носителями полиморфного (*2) и дикого генотипов не достигло уровня статистической значимости (20,9 % против 13,1 %, $p=0,06$).

Для дальнейшего анализа больные были разделены на две подгруппы в зависимости от используемой суточной дозы клопидогрела: 75 или 150 мг.

Оказалось, что неблагоприятное действие генетического варианта CYP2C19*2 проявлялось только у больных, получавших стандартную поддерживающую дозу клопидогрела 75 мг/сут. Суммарная частота возникновения сосудистой смерти, ОКС и ИИ/ТИА, как и всех сосудистых осложнений, у носителей как минимум одного аллеля CYP2C19*2 была практически в три раза выше, чем у гомозигот дикого типа (26,1 % против 8,2 % и 28,3 % против 12,2 % соответственно, рис. 13В).

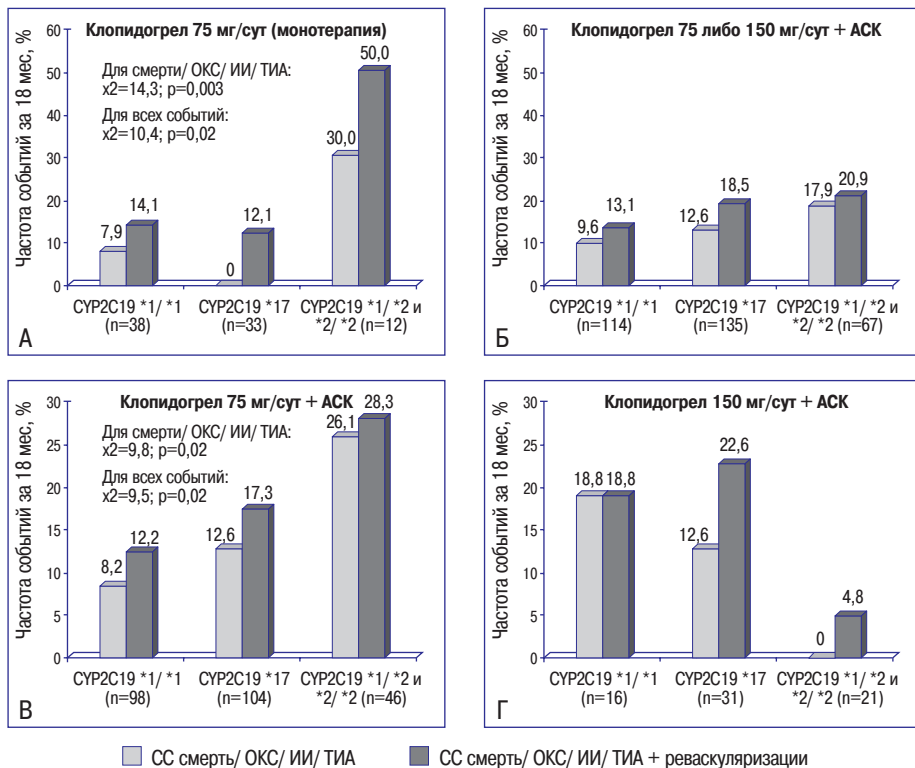


Рис. 13. Варианты CYP2C19* и эффективность клопидогрела при различных режимах антиагрегантной терапии.

У больных, получавших удвоенную дозу клопидогрела, ухудшения исходов, связанного с носительством CYP2C19*2, обнаружено не было (рис. 13Г). Таким образом, можно предположить, что удвоенная поддерживающая доза препарата 150 мг/сут. позволила нивелировать негативные эффекты аллелей низкой активности CYP2C19*2.

Напротив, неожиданно неблагоприятными оказались результаты назначения удвоенной дозы клопидогрела у гомозигот дикого типа CYP2C19*1/*1 и у носителей аллеля *17. Одной из возможных причин ухудшения исходов могла быть более высокая частота развития кровотечений (по крайней мере, при носительстве генотипа усиленного метаболизма).

Генетический анализ не позволил достоверно идентифицировать больных с высоким риском кровотечений на фоне приема клопидогрела, что связано

с относительно небольшой мощностью исследования и достаточно редкой частотой регистрации геморрагических осложнений. Тем не менее, имелась отчетливая тенденция к большей частоте кровотечений у носителей аллеля CYP2C19*17, получавших двойную антитромбоцитарную терапию (рис. 14). Эффекты генотипа CYP2C19*17 проявлялись в первую очередь у больных, получавших клопидогрел в дозе 150 мг/сут. Большинство случаев кровотечений в этой подгруппе было отмечено именно у носителей вариантного аллеля *17.

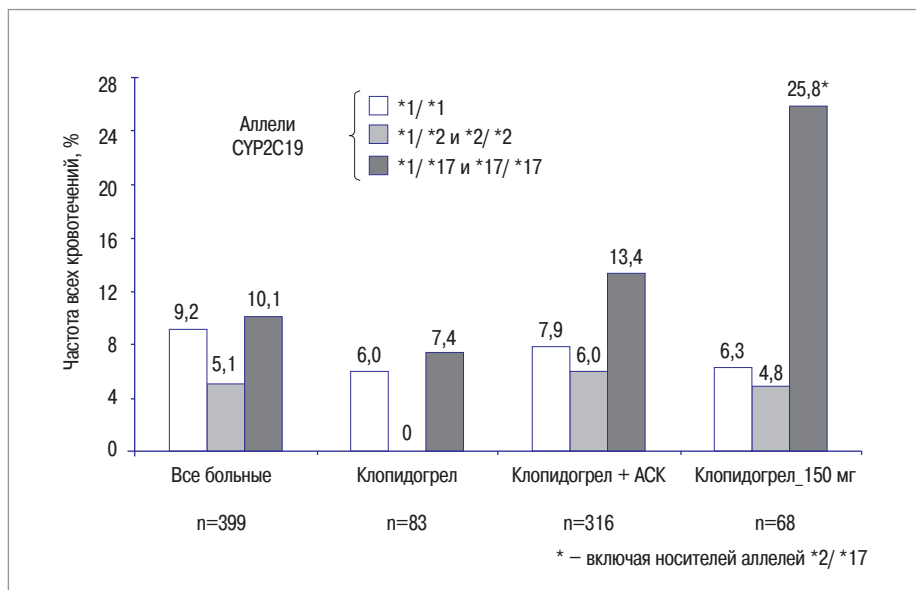


Рис. 14. Частота случаев кровотечений в зависимости от режима назначения клопидогрела и носительства аллелей CYP2C19*.

Таким образом, по нашим данным, у больных, подвергнутых плановым процедурам ЧКВ, эффективность и безопасность поддерживающих доз клопидогрела (75 и 150 мг/сут) связана с носительством аллельных вариантов CYP2C19*. У носителей генотипа промежуточного / ослабленного метаболизма (1*/2* и 2*/2*) доза клопидогрела 150 мг/сут по сравнению с дозой 75 мг/сут ассоциируется со снижением частоты ССО при отсутствии увеличения кровотечений. У носителей генотипа достаточного (*1/*1) и усиленного (*17) метаболизма доза клопидогрела 150 мг/сут не способствует снижению частоты ССО и ассоциируется с увеличением частоты кровотечений.

Заключение. Таким образом, у больных ИБС, получающих клопидогрел в стандартной, т.е., соответствующей принятым международным рекомендациям дозировке (75 мг/сут.), носительство определенных полиморфных маркеров систем биотрансформации может ассоциироваться с уменьшением содержания активного метаболита препарата, меньшим подавлением функции тромбоцитов и более высокой частотой сердечно-сосудистых событий, включая тромбозы стентов.

К настоящему моменту такая зависимость доказана в первую очередь для аллелей низкой активности CYP2C19, среди которых наиболее часто встречающимся является вариант *2. Частота гетерозиготного носительства данного полиморфного маркера составляет порядка 25–30 % у лиц европеоидной расы и 50 % у монголоидов, гомозиготное носительство встречается значительно реже: соответственно в 2 % и 14 % случаев.

Вариант *3, также кодирующий снижение функции CYP2C19, встречается реже (в среднем в 1% случаев у лиц европеоидной расы). Другие аллели, ответственные за ослабленный метаболизм CYP2C19 (*4, *5, *6, *7, *8 и др), встречаются крайне редко и не имеют большого практического значения.

Аллельный вариант *17, связанный с усиленной функцией фермента CYP2C19, может ассоциироваться с увеличением частоты кровотечений и, вероятно, не влияет на риск ишемических событий. Частота носительства данного аллеля в европейской популяции составляет около 40 %.

Носительство полиморфных аллелей гена ABCB1 (C3435T), кодирующего гликопротеин Р (система транспортера), может, вероятно, снижать всасывание клопидогрела в кишечнике, и таким образом ослаблять его антитромботическое действие. Данных о клинической значимости этого полиморфного маркера пока немного и они достаточно разноречивы.

3. Методика генотипирования

Фармакогенетическое тестирование чувствительности к клопидогрелу заключается в выявлении замен одиночных нуклеотидов (single nucleotide polymorphisms [30] – SNPs) в генах, кодирующих ферменты ABCB1 и CYP2C19. Генотипирование проводится методом ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени [31, 32]. Принцип ПЦР-РВ описан в соответствующей главе раздела, посвященного фармакогенетике варфарина.

Ниже мы приводим диагностическую платформу тестирования чувствительности к клопидогрелу на основе метода ПЦР-РВ, предложенную компанией «ДНК-Технология». Данная диагностическая платформа включает наборы реагентов для выделения ДНК из цельной крови, набор реагентов предназначенный для выявления 3-х SNP в гене CYP2C19 и SNP в гене ABCB1, а также детектирующих амплификаторов линейки ДТ, давно и успешно применяющихся в клинико-диагностической практике.

Набор реагентов реагентов для выявлении замен одиночных нуклеотидов в генах ABCB1 и CYP2C19, предлагаемый компанией «ДНК-Технология», разработан на основе модифицированного метода «примыкающих проб», предназначен для идентификации генных полиморфизмов методом ПЦР-РВ с анализом кривых плавления [33, 34], позволяет в формате «один SNP – одна пробирка» с высокой степенью специфичности дифференцировать один из трех вариантов генотипа: гомозиготы с исходной последовательностью, гетерозиготы и гомозиготы с точечной заменой нуклеотида, приведшей к изменению чувствительности к препарату. Процедура генотипирования, от забора крови до получения результата, занимает 2–2,5 часа при использовании экспресс-методики выделения ДНК, что позволяет произвести быстрое, фактически «прикроватное», генотипирование.

Русскоязычное программное обеспечение, позволяет проводить автоматическую обработку данных и выдачу результатов исследования в удобной для интерпретации форме – рис. 15.

Результат фармакогенетического исследования по анализируемым полиморфизмам, представлялся в буквенном виде – рис. 16. Выявленный генотип пациента представлен в виде двух аллелей, обозначаемых по нуклеотидному основанию, находящемуся в данной позиции.

Необходимо отметить, что на рынке представлены и другие технологические платформы для выявления замен одиночных нуклеотидов, основанные на методах пиросеквенирования или гибридизации на микрочипах. Указанные методы имеют как свои достоинства, так и недостатки, среди которых основными являются необходимость использования специализированного оборудования, например пиросеквенатора, узкая специализация (только проведение генотипирования) и в ряде случаев высокая контаминационная опасность.

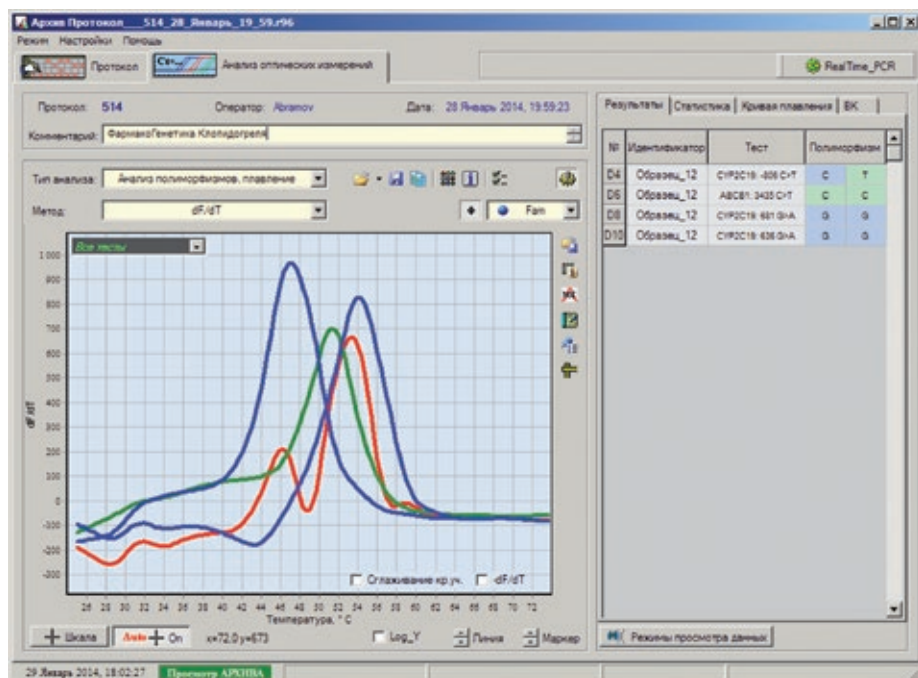


Рисунок 15. Пример результатов применения метода ПЦР-РВ с анализом кривых плавления (идентификацией и графическим отображением изменений уровня флуоресценции).

№	Наименование исследования	Результаты	
		Генотип	Ср
1	CYP2C19: -806 C>T	C T	28,5
2	ABCB1: 3435 C>T	C C	28,5
3	CYP2C19: 681 G>A	G G	28,5
4	CYP2C19: 636 G>A	G G	28,5

Рисунок 16. Пример результатов проведения фармакогенетического тестирования чувствительности к клопидогрелу, выполненного с применением диагностической платформы предложенной компанией «ДНК-Технология».

4. Интерпретация результатов исследования фармакогенетики клопидогрела

В таблице 15 представлены наиболее часто встречающиеся генетические варианты систем транспортера и биотрансформации клопидогрела.

Предлагаемая трактовка результатов исследования фармакогенетики клопидогрела основана на существующей доказательной базе (см. раздел I), мнении экспертов АНА [26], а также инструкции к препарату (Плавикс; Bristol-Myers Squibb/Sanofi), представленной на сайте FDA [35].

Таблица 15

Полиморфные маркеры систем транспортера и биотрансформации клопидогрела* и их возможное клиническое значение

Генотип	Влияние на обмен клопидогрела	Клиническое значение
Транспортер клопидогрела (<i>ABCB1 C3435T</i>)		
Дикий генотип <i>ABCB1 CC</i>	Всасывание клопидогрела не нарушено	Возможное снижение клинической эффективности у носителей <i>ABCB1 CT / TT</i>
Полиморфный генотип <i>ABCB1 CT/TT</i>	Возможное снижение всасывания	
Биотрансформация клопидогрела в печени (<i>CYP2C19*</i>)		
Дикий генотип <i>1*/1*</i>	Достаточный («экстенсивный») метаболизм	Трансформация клопидогрела не нарушена
Полиморфный генотип <i>1*/2* и 1*/3*</i>	Промежуточный метаболизм. Снижение концентрации активного метаболита ≈ на 30 %	Замедление трансформации клопидогрела, увеличение риска ишемических событий
Полиморфный генотип <i>2*/2*, 2*/3* и 3*/3*</i>	Ослабленный метаболизм. Снижение концентрации активного метаболита ≈ на 50 %	Значительное замедление трансформации клопидогрела, увеличение риска ишемических событий
Полиморфный генотип <i>1*/17* и 17*/17*</i>	Усиленный метаболизм	Ускорение трансформации клопидогрела, возможное увеличение риска кровотечений
Полиморфный генотип <i>17*/2* и 17*/3*</i>	Метаболизм неизвестен	Неизвестно

* Возможно, что помимо CYP2C19 имеются генетические варианты других ферментов CYP 450, оказывающие влияние на способность образовывать активный метаболит клопидогрела, однако их связь с неблагоприятным прогнозом на сегодняшний день не установлена.

5. Показания для выполнения фармакогенетических тестов. Предлагаемая тактика в отношении больных с генетическими нарушениями обмена клопидогрела

Несмотря на достаточно большое количество доказательств тому, что генетически обусловленное ослабление обмена клопидогрела ассоциируется со снижением его клинической эффективности, до недавнего времени не были установлены показания для проведения генетического исследования, и не была определена тактика в отношении больных с нарушенным метаболизмом клопидогрела.

Начиная с 2010 года, производитель оригинального клопидогрела (Плавикс) и администрация по пищевым продуктам и лекарственным препаратам (FDA) в США [30] считают необходимым обратить внимание практических врачей на возможность выявления больных, плохо отвечающих на клопидогрел, с помощью генотипирования или оценки остаточной реактивности тромбоцитов. Одновременно отмечается доступность для использования в клинике генетических тест-систем для определения аллельных вариантов фермента CYP2C19 как наиболее значимого в обмене клопидогрела.

В 2011 году в Европейских (ЕКО) [5] и Американских (АНА) [7] рекомендациях по лечению пациентов с ОКС без подъёма сегмента ST на ЭКГ впервые отражается мнение экспертов о том, что исследование функции тромбоцитов (OPT) и/или генотипирование (CYP2C19*) у больных, получающих клопидогрел, может быть выполнено в отдельных случаях, особенно если это может повлиять на выбор лечения. Такого же мнения придерживаются эксперты рабочей группы ЕКО по тромбозам, 2013 г [12].

Возможные показания для выполнения фармакогенетических тестов

1. Фармакогенетическое тестирование представляется востребованным в первую очередь у больных со стабильными проявлениями атеротромбоза, для которых клопидогрел пока остается единственным блокатором рецепторов к АДФ, разрешенным для рутинного применения. По мнению экспертов АНА [26], разумно выполнять предварительное генотипирование у больных, подвергаемых плановым процедурам ЧКВ высокого риска (например, при сложной коронарной анатомии, многососудистом поражении, вмешательствах на незащищенном стволе левой коронарной артерии).

2. Фармакогенетическое тестирование важно также и у больных, которым по каким-либо причинам планируется использование клопидогрела в качестве единственного антиагреганта (например, при цереброваскулярной бо-

лезни). По нашим данным (см. раздел I), носительство аллеля *CYP2C19*2* даже в гетерозиготном варианте ассоциируется с существенным увеличением риска сосудистых осложнений при монотерапии клопидогрелом, и поэтому является относительным противопоказанием к такому лечению.

3. Рутинное генотипирование вряд ли целесообразно в случае ОКС. Это следует из рекомендаций ЕКО 2011 и 2012 г [5, 6], в которых указывается на предпочтительное использование в составе двойной антитромбоцитарной терапии не клопидогрела, а новых блокаторов пуриновых рецепторов тромбоцитов с более быстрым и предсказуемым действием. Такими препаратами являются тиенопиридин третьего поколения прасугрел (в России продаж пока нет) и новый представитель ингибиторов P2Y₁₂ рецепторов – тикагрелор.

По мнению экспертов [8], замена клопидогрела на новые блокаторы пуриновых рецепторов тромбоцитов наиболее целесообразна у больных с тромбозом стента, который не может быть объяснен техническими проблемами во время ЧКВ. Учитывая заведомую неэффективность стандартных доз клопидогрела у таких больных, выполнять фармакогенетический анализ или оценивать функцию тромбоцитов, вероятно, не следует.

Следует отметить, что в реальной клинической практике частота назначения новых блокаторов пуриновых рецепторов тромбоцитов все же относительно невелика. Это связано как с их достаточно высокой стоимостью, так и с рядом противопоказаний и побочных эффектов, в первую очередь – кровотечений, риск развития которых в целом выше, чем при использовании клопидогрела. Клопидогрел же продолжает оставаться как в российских, так и в международных рекомендациях по лечению острых коронарных синдромов. Соответственно, для больных ОКС, которые по каким-либо причинам получают именно клопидогрел (таких в РФ пока большинство), фармакогенетическое тестирование сохраняет свою актуальность.

Персонафикация антиагрегантной терапии

К сожалению, на сегодняшний день возможность персонафикации антиагрегантной терапии на основании фармакогенетики не изучалась ни в одном законченном проспективном исследовании. Поэтому жестких рекомендаций по изменению терапии на основании генетических тестов нет. Тем не менее, оставлять без внимания больных со снижением чувствительности к клопидогрелу, обусловленном носительством аллелей низкой активности *CYP2C19**, было бы абсолютно неправильным. Возможные действия в отношении таких пациентов были предложены экспертами АНА (2010 г) [26].

Логичным представляется увеличение дозировки клопидогрела. Эксперты предлагают увеличить нагрузочную дозу с 300 мг до 600 мг и даже до 1200 мг (по 300 мг с интервалом в 2 часа) и поддерживающую – с 75 мг до 150 мг в сутки. Такая тактика может эмпирически использоваться у больных, являющихся «плохими лабораторными ответчиками», и/или перенесших ишемические события при приеме стандартных доз препарата. В какой-то степени доказательства клинической эффективности такого подхода были получены в исследовании CURRENT OASIS 7, опубликованном в 2010 году [31] и включившем более 25000 больных с ОКС, подвергнутых ЧКВ. Увеличение нагрузочной дозы до 600 мг и приём 150 мг клопидогрела в течение 7 дней по сравнению со стандартной схемой назначения (150+75 мг) позволило снизить ОР суммарной частоты ССС, ИМ, ИИ на 14 %, а относительный риск тромбоза стента на 31 %.

По нашим данным [27–29], полученным при 18-месячном проспективном наблюдении 503 больных стабильной ИБС, у носителей генотипа ослабленного метаболизма CYP2C19*2 увеличение поддерживающей дозы клопидогрела до 150 мг/сут снижает частоту сердечно-сосудистых осложнений, включая сосудистую смерть, ОКС, ишемический инсульт, ТИА и реваскуляризации пораженного сосудистого бассейна, при этом мы не обнаружили увеличения частоты кровотечений.

Обратим, однако, внимание на то, что большинство носителей аллеля *2 являются гетерозиготами (CYP2C19 *2/*1). В связи с этим, рекомендовать применение увеличенной дозы клопидогрела мы можем в первую очередь у носителей именно этого генотипа. Нельзя быть уверенным, что такая доза будет достаточна для больных, являющихся гомозиготными носителями медленно функционирующих аллелей. Косвенным подтверждением данного положения являются результаты исследования ELEVATE-TIMI 56 [32], в которое было включено 333 пациента, получавших клопидогрел и генотипированных в отношении носительства аллеля CYP2C19 *2. Носители данного аллеля исходно характеризовались более высокими показателями АТ на фоне приема стандартной поддерживающей дозы клопидогрела 75 мг в сутки. Увеличение дозы клопидогрела у гетерозиготных носителей аллеля *2 позволило снизить остаточную реактивность тромбоцитов до уровня, наблюдавшегося у носителей «дикого» генотипа CYP2C19 *1/*1. У гомозиготных носителей аллелей медленной активности CYP2C19 *2/*2 существенного снижения реактивности тромбоцитов не произошло даже при увеличении дозы клопидогрела до 300 мг в сутки.

Принимая во внимание все вышеизложенное, можно полагать, что увеличение дозы клопидогрела может быть эффективным лишь при гетерозиготном носительстве CYP2C19*2, в то время как наибольшее число неблагоприятных исходов отмечается у именно у гомозигот.

Следует подчеркнуть, что рутинное увеличение дозы клопидогрела у носителей аллельных вариантов быстрой активности (CYP2C19*17), подвергаемых плановым процедурам ЧКВ, вряд ли целесообразно. По нашим данным [28], высокая поддерживающая доза клопидогрела 150 мг/сут у таких больных не способствует снижению частоты сосудистых осложнений и ассоциируется с увеличением риска развития кровотечений.

Еще одной возможностью преодоления сниженной чувствительности к клопидогрелу является использование блокаторов P2Y₁₂ рецепторов тромбоцитов, эффективность которых не связана с генетическими особенностями фермента CYP2C19*. Речь идет о тиаенопиридине третьего поколения – прасугреле и производном триазолопиримидина – тикагрелоре. Как показали результаты исследований TRITON-TIMI 38 (с прасугрелом) и PLATO (с тикагрелором), данные препараты являются более эффективной альтернативой клопидогрелу в первую очередь у больных ОКС, подвергаемых инвазивному лечению. Отметим, что сравнение новых лекарств с клопидогрелом у больных, подвергаемых плановым процедурам ЧКВ, а также при тромболитической терапии инфаркта миокарда с подъёмом сегмента ST на ЭКГ пока не проводилось. Тем не менее, назначение таким больным новых блокаторов P2Y₁₂ рецепторов в случае носительства аллелей низкой активности CYP2C19* является вполне разумным (а при гомозиготном генотипе – единственно возможным) вариантом лечения.

Литература

1. Collaborative metaanalysis of randomised trials of antiplatelet therapy for prevention of death, myocardial infarction, and stroke in high risk patients. Antithrombotic Trialists' Collaboration. *BMJ* 2002; 324: 71–86.
2. J. W. Eikelboom, J Hirsh, F. A. Spencer et al. Antiplatelet Drugs. *Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis*, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *CHEST* 2012; 141(2) (Suppl): e89S–e119S.
3. Диагностика и лечение больных острым инфарктом миокарда с подъемом сегмента ST ЭКГ. Рекомендации ВНОК. Ред. Руда М. Я. // Кардиоваскулярная терапия и профилактика 2007; 6 (8), Приложение 1. С. 415–500.
4. Национальные рекомендации по лечению ОКС без стойкого подъема ST на ЭКГ Рекомендации ВНОК. Ред. Грацианский Н.А. // Кардиоваскулярная терапия и профилактика 2006; (5), Приложение 1. С. 411–440.
5. ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation / Hamm CW, Bassand JP, Agewall S et al. // *Eur Heart J*. 2011. Vol.32, № 23. P. 2999–3054.
6. ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation. *European Heart Journal* (2012) 33, 2569–2619 doi: 10.1093/eurheartj/ehs215
7. 2012 ACCF/AHA Focused Update of the Guideline for the Management of Patients With Unstable Angina/Non–ST-Elevation Myocardial Infarction (Updating the 2007 Guideline and Replacing the 2011 Focused Update) A Report of the American College of Cardiology Foundation/ American Heart Association Task Force on Practice Guidelines *JACC* Vol. 60, No. 7, 2012: 653–89
8. Guidelines on myocardial revascularization. / Wijns W, Kolh P, Danchin N, et al. // *Eur Heart J*. 2010. Vol.31, № 20. P. 2501–2555.
9. 2011 ACCF/AHA/SCAI Guideline for Percutaneous Coronary Intervention. A Report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines and the Society for Cardiovascular Angiography and Interventions. *JACC* Vol. 58, № 24, 2011: e44–122
10. Ferguson JJ, Califf RM, Antman EM, et al. Enoxaparin vs unfractionated heparin in high-risk patients with non-ST-segment elevation acute coronary syndromes managed with an intended early invasive strategy: primary results of the SYNERGY randomized trial. *JAMA* 2004; 292: 45–54.

11. Raju NC, Eikelboom JW, Hirsh J. Platelet ADP-receptor antagonists for cardiovascular disease: past, present and future. // *Nat Clin Pract Cardiovasc Med*. 2008. Vol. 5, № 12. P. 766–780.
12. Expert position paper on the role of platelet function testing in patients undergoing percutaneous coronary intervention. The Working Group on Thrombosis of the European Society of Cardiology *European Heart Journal* (2014) 35, 209–215.
13. Д. А. Сычев. Рекомендации по применению фармакогенетического тестирования в клинической практике. *Качественная клиническая практика* № 1 2011 г, с. 4–10.
14. Cytochrome P450 2C19 loss-of-function polymorphism is a major determinant of clopidogrel responsiveness in healthy subjects. / Hulot JS, Bura A, Villard E, Azizi M, Remones V, Goyenvallée C, Aiach M, Lechat P, Gaussem P. // *Blood*. 2006. Vol. 108, № 7. P. 2244–2247
15. Angiolillo DJ, Fernandez-Ortiz A, Bernardo E, Ramírez C, Cavallari U, Trabetti E, Sabaté M, Hernández R, Moreno R, Escaned J, Alfonso F, Bañuelos C, Costa MA, Bass TA, Pignatti PF, Macaya C. Contribution of gene sequence variations of the hepatic cytochrome P450 3A4 enzyme to variability in individual responsiveness to clopidogrel. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2006 Aug; 26(8): 1895–900.
16. Mega JL, Close SL, Wiviott SD, Shen L, Hockett RD, Brandt JT, Walker JR, Antman EM, Macias W, Braunwald E, Sabatine MS. Cytochrome p-450 polymorphisms and response to clopidogrel. *N Engl J Med*. 2009 Jan 22; 360(4): 354–62.
17. Trenk D, Hochholzer W, Fromm MF, Chialda LE, Pahl A, Valina CM, Stratz C, Schmiebusch P, Bestehorn HP, Büttner HJ, Neumann FJ. Cytochrome P450 2C19 681G>A polymorphism and high on-clopidogrel platelet reactivity associated with adverse 1-year clinical outcome of elective percutaneous coronary intervention with drug-eluting or bare-metal stents. *J Am Coll Cardiol*. 2008 May 20; 51(20): 1925–34.
18. Giusti B, Gori AM, Marcucci R, Saracini C, Sestini I, Paniccchia R, Buonamici P, Antonucci D, Abbate R, Gensini GF. Relation of cytochrome P450 2C19 loss-of-function polymorphism to occurrence of drug-eluting coronary stent thrombosis. *Am J Cardiol*. 2009 Mar 15; 103(6): 806–11.
19. Sibbing D, Stegheer J, Latz W, Koch W, Mehilli J, Dörrler K, Morath T, Schömig A, Kastrati A, von Beckerath N. Cytochrome P450 2C19 loss-of-function polymorphism and stent thrombosis following percutaneous coronary

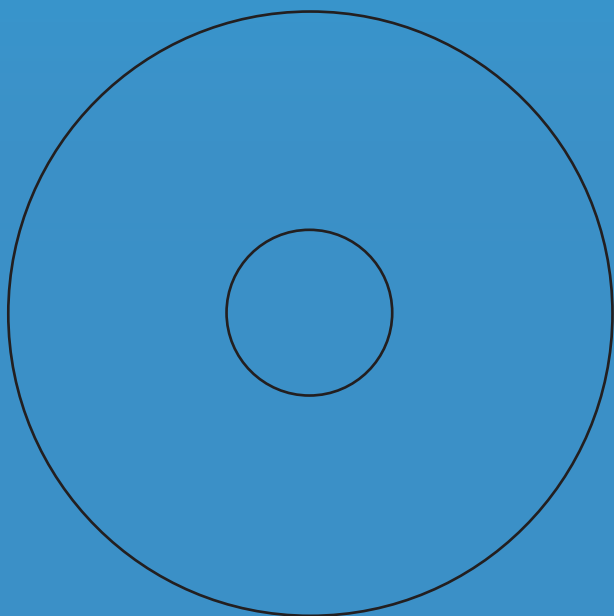
- intervention. *Eur Heart J*. 2009 Apr; 30(8): 916–22.
20. Collet JP, Hulot JS, Pena A, Villard E, Esteve JB, Silvain J, Payot L, Brugier D, Cayla G, Beygui F, Bensimon G, Funck-Brentano C, Montalescot G. Cytochrome P450 2C19 polymorphism in young patients treated with clopidogrel after myocardial infarction: a cohort study. *Lancet*. 2009 Jan 24; 373 (9660): 309–17.
 21. Simon T, Verstuyft C, Mary-Krause M, Quteineh L, Drouet E, Méneveau N, Steg PG, Ferrières J, Danchin N, Becquemont L; French Registry of Acute ST-Elevation and Non-ST-Elevation Myocardial Infarction (FAST-MI) Investigators. Genetic determinants of response to clopidogrel and cardiovascular events. *N Engl J Med*. 2009 Jan 22; 360 (4): 363–75.
 22. CYP2C19 genetic variants and clinical outcomes with clopidogrel: a collaborative meta-analysis. / Mega JL, Simon T, Anderson JL, Bliden K, Collet JP, Danchin N, Giusti B, Gurbel P, Horne BG, Kastrati A, Montalescot G, Neumann FJ, Shen L, Sibbing D, Steg PG, Trenk D, Wiviott SD, Sabatine MS. // *Circulation*, Vol. 120, № 18. Suppl. P. 598–599. Abstract 2126
 23. Reduced-function CYP2C19 genotype and risk of adverse clinical outcomes among patients treated with clopidogrel predominantly for PCI: a meta-analysis. / Mega JL, Simon T, Collet JP, Anderson JL, Antman EM, Bliden K, Cannon CP, Danchin N, Giusti B, Gurbel P, Horne BD, Hulot JS, Kastrati A, Montalescot G, Neumann FJ, Shen L, Sibbing D, Steg PG, Trenk D, Wiviott SD, Sabatine MS. // *JAMA*. 2010. Vol. 304, № 16. P. 1821–1830.
 24. D Sibbing, W Koch, D Gebhard et al. Cytochrome 2C19*17 Allelic Variant, Platelet Aggregation, Bleeding Events, and Stent Thrombosis in Clopidogrel-Treated Patients With Coronary Stent Placement.
 25. Xie, et al. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2001; 41: 815–50.
 26. ACCF/AHA Clopidogrel Clinical Alert: Approaches to the FDA “Boxed Warning” A Report of the American College of Cardiology Foundation Task Force on Clinical Expert Consensus Documents and the American Heart Association. *JACC* Vol. 56, № 4, 2010: 321–41
 27. Комаров А. Л., Панченко Е. П., Донников А. Е., Шахматова О. О., Джалилова Г. В., Илющенко Т. А. Факторы, определяющие клиническую эффективность клопидогрела и прогноз у больных стабильной формой ишемической болезни сердца. *Кардиология*. 2011г, № 2. С. 8–18.
 28. А. Л. Комаров, О. О. Шахматова, Т. А. Илющенко, А. Е. Донников, А. Б. Добровольский, Е. П. Панченко Оценка риска сердечно-сосудистых осложнений у больных стабильной ИБС, получающих клопидогрел: функция тром-

- боцитов или генетические исследования? Доктор.Ру. 2012. № 6. С 12–20.
29. Komarov A, Shakhmatova O, Donnikov et al. Carrying of P450C19*2 polymorphism and use of proton pump inhibitors increase risk of adverse outcomes after elective PCI in Russian patients with CAD [abstract P491] Eur J Cardiovasc Prev Rehabil. 2011; 18: S100-S125.doi: 10.1177/1741826711407011.
30. Brookes A. J., The essence of SNPs. Gene – 1999. – 234. – P.177–186.
31. Кофиади И. А., Ребриков Д. В. Методы детекции однонуклеотидных полиморфизмов: аллель-специфичная ПЦР и гибридизация с олигонуклеотидной пробой. Генетика. 2006; 42(1): 22–32.
32. ПЦР «в реальном времени». Д. В. Ребриков, Г. А. Саматов, Д. Ю. Трофимов, П. А. Семенов, А. М. Савилова, И. А. Кофиади, Д. Д. Абрамов. Под ред. д.б.н. Д. В. Ребрикова; предисл. Л. А.Остермана и акад. РАН и РАСХН Е. Д. Свердлова. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2009. – 215 с.
33. Сергеев И. В., Хаитов М. Р., Трофимов Д. Ю., Абрамов Д. Д., Грудакова Е. Г., Гончарова Е. В., Алексеев Л. П. Разработка методов для проведения широкомасштабных исследований полиморфизма генов, регулирующих различные компоненты иммунного ответа. Физиология и патология иммунной системы, 2009. Т. 13. № 4, С. 21–25.
34. Bernard P. S., Lay M. J., and Wittwer C. T. Integrated Amplification and Detection of the C677T Point Mutation in the Methylenetetrahydrofolate Reductase Gene by Fluorescence Resonance Energy Transfer and Probe Melting Curves. Analytical Biochemistry 1998., Vol. 255, P.101–107.
35. http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2013/020839s058lbl.pdf
36. SR Mehta, JFTanguay, JW Eikelboom et al. Double-dose versus standart-dose clopidogrel and high-dose versus low dose aspirin in individuals undergoing apci for acute coronary syndromes (CURRENT-OASIS 7): arandomised factorial trial. Lancet. September 1, 2010 DOI:10.1016/S0140–6736(10)61088–4
37. Dosing clopidogrel based on CYP2C19 genotype and the effect on platelet reactivity in patients with stable cardiovascular disease. / Mega JL, Hochholzer W, Frelinger AL 3rd, Kluk MJ, Angiolillo DJ, Kereiakes DJ, Isserman S, Rogers WJ, Ruff CT, Contant C, Pencina MJ, Scirica BM, Longtine JA, Michelson AD, Sabatine MS. // JAMA. 2011. Vol. 306, № 20. P. 2221–2228.

Список сокращений

ABK	Антагонисты витамина К
АДФ	Адензина дифосфат
АСК	Аспирин (ацетилсалициловая кислота)
АТ	Агрегация тромбоцитов
ВТЭО	Венозные тромбоэмболические осложнения
ДНК	Дезоксирибонуклеиновая кислота
ЕКО	Европейское общество кардиологов
ИБС	Ишемическая болезнь сердца
ИИ	Ишемический инсульт
ИМ	Инфаркт миокарда
МНО	Международное нормализованное отношение
НОАК	Новые пероральные антикоагулянты
ОКС	Острый коронарный синдром
ОР	относительный риск
ОРТ	Остаточная реактивность тромбоцитов
ПЦР	Полимеразная цепная реакция
ПЦР-РВ	Полимеразная цепная реакция с детекцией результатов в режиме реального времени
СГ	Стандартная группа
ТИА	Транзиторная ишемическая атака
ТГВ	Тромбоз глубоких вен
ТЭЛА	Тромбоэмболия легочной артерии
ФГ	Фармакогенетическая группа
ФП	Фибрилляция предсердий
ХСН	Хроническая сердечная недостаточность
ЧКВ	Чрескожное коронарное вмешательство
ЭДТА	Этилендиаминтетрауксусная кислота
ЭКГ	Электрокардиограмма (графия)
АНА	American Heart Association (Американская Ассоциация Сердца)
АССР	American College of Chest Physicians (Американская коллегия врачей специалистов по заболеваниям грудной клетки)
FDA	Food and Drug Administration (Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов) США

Для заметок:





ПОСОБИЕ ДЛЯ ВРАЧЕЙ

**ИССЛЕДОВАНИЕ
ФАРМАКОГЕНЕТИКИ ВАРФАРИНА
И КЛОПИДОГРЕЛА ДЛЯ ОПТИМИЗАЦИИ
АНТИТРОМБОТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ**